

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(ehem. Direktor: Prof. Dr. med. H. Kliewe)

Über die virusinaktivierenden Eigenschaften einiger aetherischer Öle in der Flüssigkeitsphase

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Ruth Frisch geb. Hasselbring
aus Nienburg/Weser

Mainz 1965

1966

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(ehem. Direktor: Prof. Dr. med. H. Kliewe)

Über die virusinaktivierenden Eigenschaften einiger aetherischer Öle in der Flüssigkeitsphase

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Ruth Frisch geb. Hasselbring
aus Nienburg/Weser

Mainz 1965



Dekan: Professor Dr. G. Korting
Referent: Professor Dr. H. Kliewe
Tag der mündlichen Prüfung: 24. Januar 1966

Inhalts-Verzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung:</u>	
Bedeutung und Anwendung der ätherischen Öle in der Medizin - eine Literaturübersicht	5
B. Bisher Bekanntes über die Virusinaktivie- rung durch ätherische Öle	12
C. Aufgabe der vorliegenden Arbeit	13
D. <u>Eigene Untersuchungen</u>	14
I. Zusammensetzung der geprüften äthe- rischen Öle	14
II. Ihr antibakterielles Spektrum	15
III. Austestung der virusinaktivierenden Eigenschaften	30
1. Toxizitätsprüfung	30
2. Qualitative Prüfung der Virusinaktivie- rung in Suspensionsversuchen an	
a) Theiler-Viren	31
b) Herpes-Viren	41
c) EMC-Viren	50
d) Influenza-Viren	59
3. Quantitative Prüfung der Virusinakti- vierung	68
E. Diskussion der Versuchsergebnisse	73
F. Zusammenfassung	77
G. Literaturverzeichnis	78

A. Einleitung

Nach der Definition von BOURNOT (6) sind ätherische Öle "flüchtige, charakteristisch und stark riechende, in Wasser schwer lösliche, ölar-tige, mitunter bei Zimmertemperatur erstarrende Flüssigkeiten, die aus pflanzlichen Ausgangsstoffen gewonnen werden."

Ihrem Wohlgeruch und Wohlgeschmack sowie ihrer Gift- und Heilwirkung verdanken zahlreiche Pflanzenteile und Pflanzenprodukte ihre von alters her geübte Anwendung. Sie kamen getrocknet oder in anderer haltbarer Form als Drogen in den Handel. Gewürze und Spezereien gehören zu den ältesten dokumentarisch erwähnten Tausch- und Handelsartikeln des Altertums. Um aus ihnen ätherische Öle zu gewinnen, bedienten sich schon die Perser einfacher Destillationsgeräte (15). In Ägypten benutzte man ätherische Öle nachweislich um 3700 v.Chr. zur Desinfektion, insbesondere zum Einbalsamieren der Toten (35). Paracelsus führte als erster die Wirkung eines ätherischen Öls auf bestimmte Einzelbestandteile zurück (15).

Auf Grund ihrer Lipoidlöslichkeit entfalten viele ätherische Öle eine starke lokale Reizwirkung. Der hyperämisierende Effekt wird therapeutisch in größtem Umfang genutzt zur Behandlung der Haut selbst und tief liegenden chronisch-entzündlichen Prozessen. Die Anwendung erfolgt in Form von Bädern, Waschungen, Einreibungen, Salben, Kataplasmen (28). STICKL (44) wies die unspezifische Reizkörperwirkung eines Auszuges aus Kapuzinerkresse nach, der die Phagozytose von Rattenhistiozyten steigert. Ferner zeigte er, daß durch Zusatz von Campheröl und Benzylsenf-öl zum Nährmedium die Wirkung von Achromycin und Streptomycin auf das Mehrfache erhöht werden kann (46). FALTIN (12) beobachtete bei der Behandlung von Abszessen und Furunkeln mit Ikon-Abszess-Salbe (Ol. Therebinth. laricis, Colophonium, Phenol, Chlorophyll) eine Beschleunigung der Spontanperforation bzw. Resorption und zuverlässige Wirksamkeit. ADAM und KORTING (1) wiesen die perkutane Resorption eines Extraktes aus Meerrettich (*Cochlearia armoracia* L.) nach. Im Gastest zeigten sie, daß der Wirkstoffauszug nach der Körperpassage im Rattenharn erscheint und antibiotische Kraft gegen Bakterien und Pilze besitzt. Der therapeutischen Anwendung sind jedoch Grenzen gesetzt durch Hautunverträglichkeit und Nierenbelastung. Untersuchungen der Ausscheidungsmengen nach Einreibung ätherischer Öle in Brust-, Hals- und Rückenpartie ergaben einen maximal höheren Gehalt in der Atemluft als nach Inhalationen (7). WILDE (51) sah nach perkutaner Verabreichung von Droserin-Einreibung (Extract. Droserae, Camph.; Öl. aether. und Nikotinsäurebenzylester) bei akuter und subakuter Bronchitis, Tracheitis sowie Pharyngitis Rückgänge der Tagesauswurfmenge von durchschnittlich 120 ccm auf

20 ccm.

Als Beispiel für die anaesthesierende Wirkung mancher ätherischer Öle seien Eugenol bzw. Nelkenöl und Campher bzw. Phenolcampher erwähnt, die wegen ihrer anästhesierenden und gleichzeitig bakteriziden Wirkung in der Zahnheilkunde zur Tamponade von Cavitäten defekter Zähne verwendet werden (15).

Unterschiedliche Versuchsergebnisse liegen über spasmolytische und sekretionsfördernde Eigenschaften vor (15). Nach EICHHOLTZ (11) entwickeln Menthol, stärker noch Fenchel, Kümmel, Anis und Kamillenblüten anti-spasmodische Wirkung. Bei Kindern führen sie zum Abgehen von Gasen aus dem Darm. Eukalyptus- und Anisöl lassen die Bronchialmuskulatur erschlaffen und steigern lokal die Bronchialsekretion. BOETTGE (5) setzt sich für eine kombinierte Anwendung ätherischer Öle bei Spasmen der glatten Muskulatur ein, insbesondere im Bereich des Magen-Darmkanals, der Gallenwege und Gallenblase, und weist auf die Präparate Rowatinox (α - und β -Pinen, d-Camphen, Borneol, Anethol, Fenchon und Cineol in Ol.oliv.) und Rowachol (Menthol, Menthon, α - und β -Pinen, Borneol, Camphene und Cineol in Ol.oliv.) hin.

Paracelsus schätzte als Nieren- und Blutreinigungsmittel die Wacholderbeeren, die heute mit 25 % in den Species diureticae DAB 6 enthalten sind (33).

Der Wert einiger ätherischer Öle - besonders Campher - als zentrale Analeptica, ist umstritten. Mit Sicherheit gelingt es, durch starke oder aromatisch riechende Stoffe reflektorisch Herz und Kreislauf anzuregen. Höhere Campherdosen lösen starke zentrale Erregungen aus, die sich bei Mensch und Tier in Krämpfen äußern. Da der Abstand zwischen erregender und lähmender Dosis gering ist, können gleichzeitig Krämpfe und Lähmungen auftreten (15).

Die Wirkung der in der Volksmedizin beliebten Baldrianwurzel und ihrer Zubereitungen wird verschieden beurteilt. Neuere Tierversuche zeigten einen deutlichen sedativen Effekt (15). EICHHOLTZ (11) findet Baldrian-tee und Baldrianpräparate wirksam bei nervösen Schlafstörungen und nervösem Herzen. Beruhigende und sedative Wirkung wird ebenfalls dem Melissen-, Lavendel-, Pfefferminz- und Kamillenöl zugeschrieben, jedoch ohne daß ausreichende experimentelle Befunde vorliegen (15).

In einer Untersuchung an Fischen stellte VON SKRAMLIK (42) fest, daß Senföl noch in einer Verdünnung von 1:320 000 einen narkotischen Effekt hervorruft, während bei Fenchelöl die vierzigfache Menge nötig ist.

Einige ätherische Öle werden oft in Form von aromatischen Wässern oder als Ölzucker verwendet. Die wichtigsten aromatischen Wässer sind Aqua Menthae piperitae, Aqua Foeniculi und Aqua Rosae. Letzteres dient als Geruchskorrigens für unangenehm riechende Stoffe. Elaeosachara benutzt man häufig als Geschmackskorrigentien für schlecht schmeckende Pulver. Als Zusatz zu Mixturen, Pulvern etc. werden oft Anis-, Zimt-, Zitronen-, Fenchel- und Pfefferminzöl genommen. Beliebte Riechzusätze zu Salben, Handcremes sind Oleum Lavendulae, Oleum Rosae und Aetheroleum Pelargonii (36). Tropische Gewürze wie Zimtrinde, Gewürznelken, Ingwer, spanischer Pfeffer, Paprika, Muskat dienen als Geschmackskorrigentien. Eine Mischung solcher aromatischer Stoffe findet sich in der Tinctura aromatica, die als Stomachicum und Carminativum zur Anwendung kommt (11). Nach oraler Einnahme großer Mengen von ätherischen Ölen können resorptive Giftwirkungen auftreten, die sich am häufigsten am Zentralnervensystem manifestieren. Bei den in der Praxis zur Anwendung gelangenden geringen Konzentrationen ätherischer Öle spielt diese resorptive Giftwirkung im allgemeinen doch keine Rolle beim erwachsenen Menschen, wohl beim Säugling und Kleinstkind.

Im Vordergrund aller Anwendungsmöglichkeiten ätherischer Öle stand wohl von jeher ihre antiseptisch-antibiotische Wirkung. Am Ende des vorigen Jahrhunderts setzte ein intensives Studium ihrer antibakteriellen Eigenschaften ein. Auch in neuerer Zeit wandte man sich, angeregt durch gewisse Nebenerscheinungen bei der Antibiotika-Therapie, wieder verstärkt der Erforschung des antibiotischen Prinzips höherer Pflanzen zu. Hier sollen nur die neuesten Arbeiten erwähnt werden.

In einer groß angelegten Versuchsreihe stellte WINTER (52-56) fest, daß von den Kräutern, die Matthiolus (1611) bei Infektionen der Harnwege verordnete, rund 64 %, und von denen, die er zur Wundheilung empfahl, 66 % antibiotisch aktiv sind. Dagegen erwiesen sich von insgesamt 1283 Arten höherer Pflanzen, nach den Gesetzen des Zufalls ausgewählt, nur 378 Arten oder 29,5 % als wirksam gegen Staphylococcus aureus, Escherichia coli und Bacillus subtilis. Besonders eingehend beschäftigte sich WINTER mit der Bedeutung von Kapuzinerkresse, Gartenkresse und Meerrettich für Therapie und Diät. In Selbstversuchen zeigte er, daß die flüchtigen Wirkstoffe aller drei Pflanzen in aktiver Form den Körper passieren und mit unverändertem Wirkungsspektrum im Urin erscheinen. Die meisten grampositiven und gramnegativen Bakterien sowie einige Pilze wurden im Gastest gehemmt.

GERMER (14), STICKL (46) und WICHER (50) erzielten in zahlreichen Fällen gute klinische Erfolge bei Pyelitiden, Cystitiden, Pyurien, Bron-

chitiden, Pharyngitiden, Tonsillitiden, Otitiden und interkurrenten flieherhaften Infekten durch tägliche Verabreichung von 20 bis 30 mg der wirksamen Substanz aus Kapuzinerkresse (*Tropaeolum maius*) per os. Gute antibakterielle Wirksamkeit, gute Verträglichkeit, fehlende Beeinflussung der physiologischen Darmflora, fehlende Resistenzbildung und unspezifische Reizkörperwirkung kennzeichnen das wirksame Agens der Kapuzinerkresse.

WINTER schlägt vor, diese antibakteriell aktiven Substanzen "Probiotika" zu nennen.. "Sie wirken für das Leben, ohne den Charakter von Vitaminen zu besitzen; antibiotisch sind sie gegenüber pathogenen Mikroben und daher für den infizierten Organismus probiotisch."

KLIEWE und DATZ (30) prüften nach der Agar-Ausstich-Methode Infuse von 92 handelsüblichen Drogen auf ihre bakterizide Wirkung gegen Staphylokokken und Typhuserreger. Aus der Gruppe von Drogen, deren Hauptbestandteile ätherische Öle darstellen, erwies sich Rainfarn als am wirksamsten gegen beide Keime. Einen etwas schwächeren Effekt zeigten Galgantwurzel und Pfefferminz.

In Gas- und Verdünnungstests prüften CARLSON und GILLISSEN (8) die Wirkung von Meerrettich, reinem Allylsenföhl und einem galenischen Auszug aus der Kapuzinerkresse (Tromalyt) auf verschiedene Bakterien und Pilze. In Tierversuchen ließ sich eine Infektion mit hämolytischen Streptokokken der Gruppe A durch orale und subkutane Applikation von Tromalyt therapeutisch signifikant beeinflussen.

STICKL (45) wies mit Hilfe der keimhemmenden Wirkung die Verteilung und Aufnahme der Hemmstoffe aus Kapuzinerkresse in den einzelnen Organen von Meerschweinchen nach. HALBEISEN (17) bestätigt das breite Wirkungsspektrum des *Tropaeolum maius*-Wirkstoffes, der gegenüber grampositiven Organismen zum Teil bakterizide Eigenschaften entfaltet. In einer weiteren Arbeit berichtet HALBEISEN (18) über eine flüchtige Substanz aus Meerrettich, die einen hemmenden Effekt auf grampositive und gramnegative Bakterien, Blastomyceten und humanpathogene Hyphomyceten ausübt und auffallenderweise stark gegen *Pseudomonas aeruginosa* wirkt. KIENHOLZ und KEMKES (24) stellten im Direktverdampfungsverfahren und im Körperpassageversuch primäre Resistenz von *Pseudomonas pyocyanea* und *Bacterium lactis* gegenüber den flüchtigen Wirkstoffen aus Kapuzinerkresse fest. Gegen Meerrettich lag keine primäre Resistenz vor. Von ihnen selbst hergestellter Meerrettichölextrakt hemmte vorwiegend grampositive Keime, käufliches reines Allylsenföhl wirkte hauptsächlich auf *B. Pyocyaneum*, *B. Lactis aerogenes* und *B. Prodigiosum* wachstumshemmend. Die selektive Wirkung wird mit dem Gehalt an verschiedenen Lipoiden im Bakterium

erklärt, welche von dem einen oder anderen ätherischen Öl besser herausgelöst werden (26).

In einer weiteren Arbeit testete KIENHOLZ (25) die hemmende Wirkung von Meerrettich, Kapuzinerkresse und Gartenkresse gegen 21 Bakterienarten im Direktverdampfungsverfahren und in Körperpassageversuchen. Von insgesamt 120 Bakterienstämmen waren 50 im Röhrchen-Verdünnungstest gegen die üblichen Antibiotika unempfindlich. Alle Bakterienstämme wurden von Meerrettich am stärksten in ihrem Wachstum gehemmt.

Im Elektronenmikroskop wurde beobachtet, daß durch Einwirkung ätherischer Meerrettichöle, ebenso wie durch tuberkulostatische Mittel, die unter ungünstigen Lebensbedingungen im Tuberkelbakterium auftretenden Degenerationsprozesse beschleunigt ablaufen. Über frühzeitige Vakuolenbildung und Granula-Einlagerung sowie über Auflockerung der Zellstruktur kommt es zur Bakteriolyse (23).

WECHSELBERG (49) untersuchte den Einfluß von Extrakten aus Kapuzinerkresse, Meerrettich und Knoblauch auf Tuberkelbakterien. Im Gastest hatten die flüchtigen Substanzen aus Kapuzinerkresse einen wachstumshemmenden Effekt auf Tuberkelbakterien (H 37 Rv), im Kontaktverfahren der Emulsionsmethode mit flüssigen Nährmedien war bei keinem der drei Pflanzenauszüge eine tuberkulostatische Wirkung nachzuweisen. Von den gebräuchlichsten ätherischen Ölen entfalteten Anis-, Zimt-, Pfefferminz- und Fenchelöl die stärkste tuberkulostatische Wirkung; die pharmazeutischen Spezialitäten Pertussin-Balsam, Pinimenthol, Liberol-Salbe und Thymipin-Balsam wirkten erst bei wesentlich höheren Dosen. Im Kontaktverfahren der Emulsionsmethode mit flüssiger Nährlösung nach Kirchner zeigten Zimtöl (1:20 000), Pfefferminzöl (1:6 666) und Nelkenöl (1:6 666) eine stärkere wachstumshemmende Aktivität gegen *Mycobacterium tuberculosis* (H 37 Rv) als Lavendelöl (1: 4 000) und Bergamotteöl (1: 4 000) (48).

Die bakteriostatische und bakterizide Wirkung einer Kombination von ätherischen Ölen (*Oleum Menthae piperitae*, *Oleum Eucalypti*, *Oleum Macidis*, *Oleum Foeniculi*, *Oleum Coriandri*, *Oleum Melissae Indicum*, *Oleum Cupressi*, *Oleum Juniperi*, *Oleum Majorani*, *Oleum Rosmarini*, *Oleum Thymi*, *Zingiberis*, d-Campher und Aromatica = Baokang-Öl) auf gramnegative und grampositive Keime untersuchte KIENHOLZ (27). Baokang-Öl zeigte im flüssigen und im gasförmigen Zustand eine gute wachstumshemmende Wirkung gegenüber Staphylokokken, Streptokokken und Hefe. Zur Abtötung dieser Mikroorganismen wird etwa die gleiche Ölmenge gebraucht. Die Resistenz der untersuchten Bakterien gegen diese Ölkombination konnte experimentell nicht gesteigert werden. Gleiche Bakterienarten verschiedener Herkunft sowie pathogene und apathogene Bakterien derselben Art erwiesen

sich als gleichermaßen empfindlich gegen Baokang-Öl.

Die bakteriostatische Wirkung selbst gewonnener Senföle (Methyl-, Äthyl-, Allyl-, Phenyl-, Benzyl- und Phenyläthylsenföl) im Gastest nach Winter und Willeke gegen *Staphylococcus aureus* Sg 511, *E. coli* und *Sarcina lutea* und im Röhrchentest gegen *Staphylococcus aureus* prüften KLESSE und LUKOSCHEK (29). Alle Senföle wirkten noch in hohen Verdünnungen wachstumshemmend. Die Grenzkonzentration für totale Bakteriostase lag je nach Senföl und Keimart zwischen 1:10 000 und 1:600 000. Die Toxizität wurde durch subkutane Injektion an weißen Mäusen geprüft und abhängig von der Flüchtigkeit gefunden. Höchste Flüchtigkeit und Toxizität zeigte das Methylsenföl, geringste Giftigkeit das Phenyläthylsenföl.

MÖSE und LUKAS (37) prüften die antibakterielle Wirksamkeit von Melissenöl (handelsübliches bzw. reines Melissendestillat), Citronenöl, Citronellöl, Calendulas-Öl, Kamillenöl, Citral, Citronellal, Linalool, Geraniol und Azulen in Dampfform und stellte das zum Teil stark unterschiedliche Verhalten dieser Substanzen gegenüber einzelnen Keimen, sogar gegen Stämme gleicher oder verwandter Art, fest. Die getesteten Öle und Riechstoffe waren am wirksamsten, wenn der mit Bakterien infizierte Faden feucht war.

Mit der Frage nach der Verwendungsmöglichkeit ätherischer Öle zur Raumdesinfektion beschäftigten sich intensiv KELLNER und KOBER (20-22). Die Untersuchung der Dämpfe von 175 ätherischen Ölen ergibt ein sehr unterschiedliches Verhalten gegenüber 8 verschiedenen Bakterien und einer Hefeart. Auf Grund der Ergebnisse bei den Keimhemmungs-Versuchen wurden Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und Wirkungsintensität angenommen. Die in Dampfform günstig wirkenden Terpene besitzen eine Isopropyl- oder Isopropylengruppe im Molekül, dabei sind die am Kern befindlichen Isopropyl- bzw. Isopropylengruppen den gleichen Gruppen an der Seitenkette überlegen. Doppelbindungen im Kern und an der Seitenkette verstärken die keimhemmende Wirkung. Von 24 getesteten wirksamen Verbindungen erwiesen sich p-Cymol, einige Terpenalkohole (Linalool, Geraniol und Nerol) und Zimtaldehyd wegen relativ geringer schädlicher Eigenschaften als brauchbar.

RITZERFELD (39) untersuchte Desinol, ein Präparat, das Borneol sowie Methylchavicol, Fenchylalkohol und Oleum Pini silvestris enthält, in seinen Eigenschaften gegenüber *Staphylococcus aureus haemolyticus*, *Bact. coli*, *Bact. pyocyaneum*, Enterokokken und Tuberkelbakterien (H 37 Rv). In hohen Konzentrationen (1:150 bzw. 1:500) zeigte das Mittel eine deutlich hemmende Wirkung. Staphylokokken, Enterokokken und Colibakterien zeigten sich etwa gleich empfindlich im Desinfektionsversuch, *Pyocyaneus*-

Keime erwiesen sich als resistent. Im Warburg-Versuch erschienen Staphylokokken empfindlicher als Colibakterien. Bei Konzentrationen von 1:100 und 1:500 wurden Tuberkelbakterien deutlich beeinflusst.

WITZENHAUSEN und GUST (57) berichten, daß käufliche Coniferenöle (Phagogene H.N.C. absolu 304) bei der vorgeschriebenen Anwendungsweise als Flächen- und Raumesinfektionsmittel nicht geeignet sind, da sie auf trockener Unterlage unzureichend bakterizid wirken. Durch die nachweisbar enthaltenen Phenole erklärt sich die bakterizide Wirkung des Mittels in Gegenwart von Wasser und die Toxizität bei Verneblung. Experimentell wurde belegt, daß die bakterizide Wirkung von Phenol in öliger Lösung stark herabgesetzt oder sogar aufgehoben wird.

B.SCHMIDT (40) kommt nach Keimträgerversuchen mit handelsüblichen Coniferenölen (Präparat Euphagol) zu dem Ergebnis, daß Euphagol unbrauchbar ist zur Wäschedesinfektion, wenn es sich um Staphylococcus aureus haemolyticus Sg 511, Bact.pyocyaneum, E.coli, Salmonella paratyphi B und Salmonella typhi handelt. Als ungeeignet erwies sich Euphagol auch zur Desinfektion infizierter Holzbrettchen nach der Methode von Heicken. Obgleich im Sedimentationsverfahren eine gute bakterizide Wirkung erreicht wurde, ist Euphagol als Raumesinfiziens wegen seines unangenehmen Geruchs und seiner toxischen Eigenschaften nicht zu empfehlen. Das Deutsche Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose hat Euphagol als Mittel zur Zimmerdesinfektion und Wäschedesinfektion bei Tuberkulose abgelehnt, ebenfalls als Mittel zur Schlußdesinfektion bei übertragbaren Darmerkrankungen.

MARUZELLA und LIGUORI (34) untersuchten die fungizide Wirkung von 92 ätherischen Ölen und 12 terpenfreien Ölen sowie von drei fetten Ölen in vitro. Danach wirkten das rote Majoranöl, das rote Thymianöl, Birkenrindenöl, Bohnenkrautöl, Corianderöl, Sassafrasöl, Zimtöl, Lorbeerblätteröl und Chinopodiumöl am stärksten fungizid, während von den terpenfreien Ölen Zimt-, Kümmel, Dill- und Anisöl am wirksamsten erschienen. Die fetten Öle zeigten keinen fungiziden Effekt.

Auf Grund tierexperimenteller Ergebnisse empfehlen AKAČIČ und PETRIČIČ (2) Aetheroleum Thymi als Anthelminticum.

Besonders interessant ist der von GERMER (14) im Meerschweinchenversuch festgestellte rickettsiostatische Effekt von Tromalyt. Sieben Tiere wurden intraperitoneal mit je 1 ccm einer Aufschwemmung von Rickettsia burneti (Ninemile-Stamm) infiziert und anschließend täglich mit 3x3 Kap-seln Tromalyt gefüttert. Alle so behandelten Tiere blieben gesund, während die fünf Kontrolltiere erkrankten.

B. Bisher Bekanntes über die Virusinaktivierung durch ätherische Öle

Über die virusinaktivierende Wirksamkeit ätherischer Öle ist erst wenig bekannt. In der zugänglichen Literatur werden nur Angaben über die viruzide Wirkung einiger Senföle gemacht.

HERRIOTT (19) prüfte die Wirkung einiger Senfölgase (nitrogen mustards: Äthyl-bis(β -chloräthyl)-amin (EBA), Methyl-bis(β -chloräthyl)-amin (MBA) und Tri(β -chloräthyl)-amin (TBA)) auf sechs tierpathogene, ein pflanzenpathogenes und zwei bakterienpathogene Viren:

[NEWCASTLE's disease-Virus, Pferde-Encephalomyelitis-Virus (Eastern strain), Pneumonitis-Virus (Baker), Kaninchen-Papillom-Virus (Shope), Tollwut-Virus, Kaninchen-Myxom-Virus, Tabak-Mosaik-Virus, T 2 r⁺ Phagen von E.coli B und Staphylokokken-Phagen.] Viren mit Desoxyribonukleinsäure wurden schneller inaktiviert als solche, die Ribonukleinsäure enthalten.

DRAKE, HAMPIL, PENNELL, SPIZIZEN, HENLE und STOKES jr. (9) zeigen im Experiment an Freiwilligen, daß ein Senföl ("nitrogen mustard") in einer Konzentration von 500 mg pro Liter Blut den Ausbruch der Serumhepatitis (Fort Bragg strain) nicht verhindern kann. FONG und BERNAL (13) stellten fest, daß "Sulfur mustard" in einer Konzentration von 5×10^{-4} M bei 25°C in 30 Minuten die Infektiosität von Influenzaviren für Hühnerembryonen auf 1/1000 der ursprünglichen Größe und die Toxizität für Mäuse um 75 % verringert.

KLESSE und LUKOSCHEK (29) prüften die Wirksamkeit von Benzylsenföl gegen Encephalitis-Virus Columbia SK. Ein mit diesem Virus infiziertes Mäusehirn wurde mit Benzylsenföl im Verhältnis A = 1:300 000, B = 1:1 000 000 versetzt; C = Kontrolle. Nach 24-stündiger Aufbewahrung im Eisschrank wurden drei Gruppen von Mäusen gleicher Zahl mit je einer Lösung intracerebral infiziert. Die Tiere der Gruppen B und C starben in typischer Zeit, während die Mäuse der Gruppe A eine deutlich verlängerte Überlebenszeit aufwiesen bzw. überlebten. Anschließend wurden die Gehirne sämtlicher Mäuse auf Meerschweinchen weiterverimpft, wobei nur die Tiere überlebten, die mit Mäusehirnen der Gruppe A geimpft waren.

Im exembryonierten Brutei untersuchten SPRÖSSIG und SCHABINSKI-STEPAN (43) den Einfluß des aus der Kapuzinerkresse gewonnenen Wirkstoffes, der identisch ist mit dem Benzylsenföl, auf die Synthese von Influenzavirus. Das Virus selbst wurde nicht inaktiviert, sondern durch Eingreifen in den Zellstoffwechsel hemmten selbst niedrige Wirkstoffkonzentrationen die Virusproduktion.

Benzylsenföl schädigt wie das zum Vergleich herangezogene Chinin die Zellatmung.

Alles in allem ist festzustellen, daß über die virusinaktivierende Wirkung ätherischer Öle noch sehr wenig bekannt ist. Das Problem "Virusinaktivierung" und die Notwendigkeit, über geeignete Mittel zur Abtötung von Viren zu verfügen, stellt sich im Rahmen der Seuchenbekämpfung und Seuchenprophylaxe aber umso dringender, als es zur Zeit noch keine Chemotherapie der Viruserkrankungen gibt, wie diese hingegen bei bakteriell bedingten Erkrankungen dem Kliniker längst unentbehrlich geworden ist.

C. Aufgabe der vorliegenden Arbeit

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es daher sein, in Modellversuchen am Tier, die vorsichtige Analogieschlüsse zu Virusinfektionen des Menschen zulassen, eine Reihe der bekannten ätherischen Öle daraufhin zu prüfen, ob sie unter den gewählten Versuchsbedingungen geeignet sind, ungereinigtes Virus ganz oder teilweise zu inaktivieren, so daß dieses nicht mehr in der Lage ist, beim Versuchstier die für die jeweilige Virusart spezifischen und zum Tode führenden Krankheitssymptome auszulösen.

Da die antibakteriellen Eigenschaften der ätherischen Öle grundsätzlich keinen Rückschluß auf deren Viruswirksamkeit zulassen, war es von untergeordneter Bedeutung, welche Arten von ätherischen Ölen zur Austestung kamen. Aus praktischen Erwägungen haben wir es jedoch vorgezogen, solche ätherischen Öle für den Versuch auszuwählen, über deren antibakterielle Eigenschaften bereits experimentelle Daten vorliegen oder deren therapeutische Wirkung sich die Medizin bereits zunutze macht. Um aber auch selbst vergleichbare Ergebnisse über die antibakteriellen Eigenschaften der hier verwendeten ätherischen Öle zu erhalten, wurden diese zunächst in vitro nach den für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel geltenden Richtlinien (32) ausgetestet. Erst danach erfolgte die Prüfung der virusinaktivierenden Eigenschaften dieser ätherischen Öle im Tierversuch. Auf irgendwelche Richtlinien konnten wir uns dabei nicht stützen, da es derartige verabredete Richtlinien für die Prüfung viruzider Substanzen zur Zeit noch nicht gibt, obwohl gewisse Ansatzpunkte für Normierungen bereits aufgezeigt wurden (3,4,10,16 und 41).

D. Eigene Untersuchungen

I. Die geprüften ätherischen Öle

Es wurden die bakteriostatischen, bakteriziden und viruziden Eigenschaften von sieben verschiedenen ätherischen Ölen geprüft. Die Bestandteile der Öle wurden uns freundlicherweise von den Herstellerfirmen mitgeteilt.

1. Lavendelöl = Oleum Lavendulae (Firma Dragoco in Holzminden):

Furfurol, Valeraldehyd, Amylalkohol, Ocimen, Äthyl-m-amyketon, Methylheptanon, Carvon, α -Pinen, Cineol, α -Borneol, d-Bornylacetat, l-Linalool (bis zu 25 %), l-Linalylacetat (bis 50 %), Geraniol, Lavendulol, Nerol, Thymol, Caryophyllen, Cumarin, Cuminalkohol, Essigsäure, Benzoesäure, Capronsäure, Baldriansäure, Tiglinsäure, Pelargonsäure, 7-Methoxycumarin, Cadinol, Bisabolol, Citronellol, Cadinen, Bisabolen.

2. Anisöl = Oleum Anisi (Firma Dragoco in Holzminden):

Anethol (80-90 %), Methylchavicol, p-Methoxyphenylacetone (Anisketon), d- α -Pinen, α -Phellandren, Dipenten, Camphen.

3. Pfefferminzöl = Oleum Menthae Piperitae (Firma Dragoco in Holzminden):

Acetaldehyd, Dimethylsulfid, Isovaleraldehyd, Essigsäure, Isoamylalkohol, Amylalkohol, Isovaleriansäure, α -Pinen, Phellandren, Limonen, Cineol, Terpinen, D-Menthon und l-Menthon (15-20 %), l-Menthol (50 %), Menthylacetat, Piperiton, Menthylisovalerianat, Cadinen, Menthofuran, Neomenthol, Isomenthol, Neoisomenthol, Thymol, Carvacrol, Jasmon, Caryophyllen, Pulegon.

4. Eukalyptusöl = Oleum Eukalypti (Firma E.Merck in Darmstadt):

Hauptbestandteile: Eukalyptol (Cineol), d- α -Pinen, Camphen, Fenchon, Valeraldehyd, Butyraldehyd, Capronaldehyd, Rutin.

5. Nelkenöl = Oleum Caryophylli (Firma E.Merck in Darmstadt):

Eugenol (ca. 85 %), Acetylgengenol (ca. 10 %), daneben Caryophyllen, Furfurol, Vanillin, Methylamylketon.

6. Zitronenöl = Oleum Citri (Firma Dragoco in Holzminden):

α -Pinen, Camphen, β -Pinen, β -Phellandren, Methylheptanon, γ -Terpinen, d-Limonen als Hauptbestandteil; Octylaldehyd, Nonylaldehyd, Decylaldehyd, Duodecylaldehyd, Citronellal, Citral (4 %), α -Terpineol, Linalylacetat, Geranylacetat, Geraniol, Nerol, Nerylacetat, Citronellol, Citronellylacetat, Bisabolen, Cadinen, Essigsäure, Caprinsäure, Laurinsäure.

7. Allylsenfö1 (Firma Dr. Theodor Schuchardt in München):

DAB 6 ^d_{20/20} = 1,020

97,5 %.

Alle Öle wurden ständig bei +4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

II. Antibakterielles Spektrum der geprüften Öle

Als Testkeime dienten gramnegative und grampositive Erreger:

Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511

Hämolisierende Streptokokken

Enterokokken

E.coli

Pseudomonas pyocyanea

Bacillus subtilis.

Als orientierende Vorprüfung zur bakteriostatischen Wirkung der genannten ätherischen Öle wurde der Agardiffusionstest (Zylinder-Lochtest) ausgeführt.

Materialvorbereitung:

Die Testkeime, aus 16-24 Stunden alten Kulturen gewonnen, wurden bei Zimmertemperatur (um 20°C) mittels einer abgeflamten und wieder abgekühlten Öse (innerer Durchmesser 3 mm) in je ein Reagenzglas mit 5 ml steriler Nährbouillon überimpft, die anschließend 16-24 Stunden bei 37°C bebrütet wurden.

Es wurden Agarplatten gegossen.

Ausführung:

Jede Agarplatte wurde in 6 Sektoren eingeteilt. In der Mitte des erstarrten Agars ist mit einem abgeflamten Kahn-Röhrchen ein Loch ausgestanzt worden, das bis zum Rand mit einem der sieben ätherischen Öle gefüllt wurde. Mit einer abgeflamten Öse wurde in jedem Sektor ein Bakterienstamm bis zum Lochrand ausgestrichen.

Kontrolle:

Das ausgestanzte Loch der in sechs Sektoren eingeteilten Agarplatte wurde bis zum Rand mit sterilem Aqua dest. gefüllt und in jedem Sektor eine Keimart bis zum Lochrand ausgestrichen.

Nach 24-stündiger Inkubation bei 37°C wurden die Ergebnisse abgelesen. Je nach der Größe des Hemmhofes sind verschiedene Grade der bakteriostatischen Wirkung notiert worden (Tab.1).

Tab.1. Orientierende Prüfung der bakteriostatischen Eigenschaften von sieben ätherischen Ölen im Agar-Diffusionstest

Testkeim	Lavendel- öl	Anis- öl	Pfeffer- minzöl	Eukalyp- tusöl	Nelken- öl	Zitro- nenöl	Allyl- senföl
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>haemolyticus</i> SG 511	++	+	++-+++	+++	+ -++	+++	
Hämolysierende Streptokokken	+ -++	+	++	+++	++	++	
Enterokokken	+	e	+	++	+	+ -++	
<i>E.coli</i>	++-+++	++-+++	+++	+++	++	+	
<i>Pseudomonas pyocy-</i> <i>nea</i>	+	+	+	e	+	+	
<i>Bacillus subtilis</i>	++	+	++-+++	+++	++	+++	

Zeichenerklärung:

- e = resistent
- +
- ++ = schwach sensibel
- +++ = sensibel
- +++ = hochsensibel.

Nach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (32) wurde die bakteriostatische Kraft der sieben ätherischen Öle im Reihenverdünnungstest geprüft.

Materialvorbereitung:

Sterile, mit einem Wattestopfen verschlossene Kahn-Röhrchen wurden mit je 1 ml steriler Bouillon gefüllt und 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert.

Als Testkeime verwendeten wir 24 Stunden alte Schrägagarkulturen, die in Reagenzgläser mit 5 ml steriler Bouillon überimpft wurden. 0,1 ml dieser 24 Stunden bei 37°C bebrüteten Bouillonkulturen ist mit 9,9 ml steriler Bouillon vermischt worden, so daß sich eine Verdünnung von 1:100 ergab.

Ausführung:

Bei Zimmertemperatur (um 20°C) wurden von jedem ätherischen Öl sechs aufsteigende Verdünnungsreihen mit je 15 vorbereiteten Kahn-Röhrchen (Inhalt 1 ml, Ölverdünnung 1:2 bis 1:32 768) unter sterilen Kautelen angelegt, dabei die Röhrcheninhalte jeweils mit einer neuen sterilen Pipette gut durchmischt, um eine möglichst feine Verteilung des Öls zu erzielen:

Die Beimpfung der Röhrchen jeder Reihe erfolgte durch Zusatz von 1 Tropfen der jeweiligen 1:100 verdünnten Bakterienkultur zu der Ölemulsion.

Kontrolle:

Für die Kontrollen wurden in den oben genannten Ansätzen die Öle jeweils durch eine entsprechende Menge von sterilem Aqua dest. ersetzt.

Alle Röhrchen wurden bei 37°C insgesamt 72 Stunden bebrütet. Die Ablebung der Ergebnisse erfolgte nach 48 und 72 Stunden (Tabellen 2-8).

Tab.2. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Lavendelöl im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. x)	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- rokok- ken	Testkeime		Bacil- lus subt.
						E. coli	Pseud. pyoc.	
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
3	12,5	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
4	6,25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
5	3,125	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
6	1,6	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
7	0,8	48	o	o	+	o	+	o
		72	o	o	+	o	+	o
8	0,4	48	+	o	+	o	+	o
		72	+	o	+	o	+	o
9	0,2	48	+	+	+	o	+	o
		72	+	+	+	o	+	o
10	0,1	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
11	0,05	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
12	0,025	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
13	0,0125	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
14	0,006	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
15	0,003	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.3. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Anisöl im Reihenverdünnungsrest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. in % x)	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- rokok- ken	Testkeime		
						E. coli	Pseud. pyoc.	Bacil- lus subt.
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
3	12,5	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
4	6,25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
5	3,125	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
6	1,6	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	+	+	o	+	o
7	0,8	48	o	+	o	o	+	o
		72	o	+	+	o	+	o
8	0,4	48	o	+	+	o	+	o
		72	o	+	+	o	+	o
9	0,2	48	o	+	+	o	+	o
		72	o	+	+	o	+	o
10	0,1	48	o	+	+	o	+	+
		72	+	+	+	o	+	+
11	0,05	48	+	+	+	o	+	+
		72	+	+	+	o	+	+
12	0,025	48	+	+	+	o	+	+
		72	+	+	+	o	+	+
13	0,0125	48	+	+	+	o	+	+
		72	+	+	+	o	+	+
14	0,006	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
15	0,003	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.4. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Pfefferminzöl im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. x) in %	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- kok- ken	Testkeime		
						E. coli	Pseud. pyoc.	Bacil- lus subt.
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
3	12,5	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
4	6,25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
5	3,125	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
6	1,6	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
7	0,8	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
8	0,4	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
9	0,2	48	o	o	+	o	+	o
		72	+	o	+	o	+	o
10	0,1	48	+	o	+	o	+	o
		72	+	o	+	o	+	o
11	0,05	48	+	+	+	o	+	o
		72	+	+	+	o	+	o
12	0,025	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
13	0,0125	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
14	0,006	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
15	0,003	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.5. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Eukalyptusöl im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. x) in %	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- rokok- ken	Testkeime		
						E. coli	Pseud. pyoc.	Bacil- lus subt.
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
3	12,5	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
4	6,25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
5	3,125	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
6	1,6	48	o	o	+	o	+	o
		72	o	o	+	o	+	o
7	0,8	48	+	o	+	o	+	o
		72	+	o	+	o	+	o
8	0,4	48	+	+	+	o	+	o
		72	+	+	+	o	+	o
9	0,2	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
10	0,1	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
11	0,05	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
12	0,025	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
13	0,0125	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
14	0,006	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
15	0,003	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.6. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Nelkenöl im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. x)	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- rokok- ken	Testkeime		Bacil- lus subt.
						E. coli	Pseud. pyoc.	
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
3	12,5	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
4	6,25	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
5	3,125	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
6	1,6	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
7	0,8	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
8	0,4	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
9	0,2	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
10	0,1	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
11	0,05	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
12	0,025	48	o	o	+	o	+	o
		72	o	+	+	o	+	o
13	0,0125	48	o	+	+	+	+	o
		72	o	+	+	+	+	o
14	0,006	48	o	+	+	+	+	o
		72	o	+	+	+	+	o
15	0,003	48	o	+	+	+	+	o
		72	o	+	+	+	+	o
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.7. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Zitronenöl im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. in % x)	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Ente- rokok- ken	Testkeime		
						E. coli	Pseud. pyoc.	Bacil- lus subt.
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
3	12,5	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
4	6,25	48	o	o	o		+	o
		72	o	o	o	o	+	o
5	3,125	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
6	1,6	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
7	0,8	48	o	o	o	o	+	o
		72	o	o	o	o	+	o
8	0,4	48	+	o	+	+	+	o
		72	+	o	+	+	+	o
9	0,2	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
10	0,1	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
11	0,05	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
12	0,025	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
13	0,0125	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
14	0,006	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
15	0,003	48	+	+	+	+	+	+
		72	+	+	+	+	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Tab.8. Prüfung der wachstumshemmenden Eigenschaften von Allylsenfö1 im Reihenverdünnungstest

Röhr- chen Nr.	Mittel- konz. x) in %	Abge- lesen nach Stdn.	Staph. aureus haemol.	Hämolys. Strep- tokokken	Testkeime			
					Ente- kok- ken	E. coli	Pseud. pyoc.	Bacil- lus subt.
1	50	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
2	25	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
3	12,5	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
4	6,25	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
5	3,125	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
6	1,6	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
7	0,8	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
8	0,4	48	o	o	o	o	o	o
		72	o	o	o	o	o	o
9	0,2	48	o	o	+	o	o	o
		72	o	o	+	o	o	o
10	0,1	48	o	o	+	o	o	+
		72	o	o	+	o	o	+
11	0,05	48	o	o	+	o	+	+
		72	o	o	+	o	+	+
12	0,025	48	+	o	+	o	+	+
		72	+	o	+	o	+	+
13	0,0125	48	+	o	+	o	+	+
		72	+	o	+	o	+	+
14	0,006	48	+	o	+	o	+	+
		72	+	o	+	o	+	+
15	0,003	48	+	o	+	o	+	+
		72	+	o	+	o	+	+
Kontrolle			+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum
o = Wachstum gehemmt.

x) abgerundete Werte.

Die bakterizide Wirkung der ätherischen Öle wurde mit der Suspensionsmethode nach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (32) untersucht.

Als Testkeime dienten gramnegative und grampositive Bakterien:

Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511,

Enterokokken,

E. coli,

Pseudomonas pyocyanea.

Materialvorbereitung:

Mit Watte verschlossene, sterile Kahn-Röhrchen wurden mit je 1 ml steriler Nährbouillon beschickt und 15 Minuten im Dampftopferhitzt. Die erforderlichen Bakteriensuspensionen sind aus der dritten Passage des jeweiligen Testkeims auf Schrägagar hergestellt worden, indem die letzte Kultur nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C mit 10 ml steriler Bouillon abgeschwemmt und in einem sterilen Schüttelfläschchen mit Glasperlen in eine gleichmäßige Keimaufschwemmung überführt und sodann 1:10 verdünnt wurde (1 ml Keimsuspension + 9 ml sterile Bouillon).

Jedes Öl kam in drei verschiedenen Konzentrationen zur Anwendung, nämlich 10 %, 1 % und 0,1 %.

10 %: 0,5 ml konz. äth. Öl + 4,5 ml ster.Aq.dest.

1 %: 0,5 ml d. 10 % Ölverd. + 4,5 ml ster.Aq.dest.

0,1%: 0,5 ml d. 1 % Ölverd. + 4,5 ml ster.Aq.dest.

Ausführung:

Durch Zugabe von je 1 ml äth. Öls in den vorgenannten Konzentrationen zu 1 ml steriler Nährbouillon in schon vorbereiteten Kahn-Röhrchen ergaben sich Endverdünnungen der Öle von 5 %, 0,5 % und 0,05 %, die mit 0,1 ml der jeweiligen 1:10 verdünnten Keimsuspension beimpft wurden.

Nach drei verschiedenen Einwirkzeiten: 2,5 Minuten, 15 Minuten und 60 Minuten wurde eine Öse dieses Gemisches in ein steriles Kahn-Röhrchen mit 1 ml Nährbouillon überimpft.

Kontrolle:

Die Kontrollen unterschieden sich von der genannten Versuchsanordnung lediglich dadurch, daß bei ihnen anstelle der Ölverdünnungen entsprechende Menge von sterilem Aqua dest. verwendet und nach 60 Minuten Einwirkzeit abgeimpft wurde. Die Inkubation aller Röhrchen erfolgte bei 37°C über einen Zeitraum von 48 Std., die Ablesung der Ergebnisse nach 24 und 48 Stunden.

Unklare Ergebnisse wurden durch Subkulturen gesichert, wobei eine Öse des Bouillon-Öl-Keim-Gemisches auf eine Agarplatte ausgestrichen wurde (Tab.9-15).

Tab.9. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Lavendelöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirkzeit in Min.	Mittelkonzentration in %				Keim- kontr.
		10	1	0,1		
Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(o) +	(+) +	(+) +		(+) +
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +		(+) +
E. coli	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(o) o	(+) +	(+) +		
	60	(o) o	(+) +	(+) +		(+) +
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +		(+) +

Tab.10. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Anisöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirkzeit in Min.	Mittelkonzentration in %				Keim- kontr.
		10	1	0,1		
Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511	2,5	(o) o	(+) +	(+) +		
	15	(o) o	(+) +	(+) +		
	60	(o) o	(+) +	(+) +		(+) +
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +		(+) +
E. coli	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(o) o	(+) +	(+) +		
	60	(o) o	(+) +	(+) +		(+) +
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +		(+) +

Zeichenerklärung: + = Wachstum nach 48 Stunden
o = Kein Wachstum nach 48 Stunden
() = Ergebnis nach 24 Stunden

Tab.11. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Pfefferminzöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirk- zeit in Min.	Mittelkonzentration in %			Keim- kontr.
		10	1	0,1	
Staphylococcus aureus haemoly- ticus SG 511	2,5	(o) o	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(+) +	(+) +	
	60	(o) o	(+) +	(+) +	
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	
E. coli	2,5	(o) o	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(+) +	(+) +	
	60	(o) o	(+) +	(+) +	
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(+) +	(+) +	
	60	(o) o	(+) +	(+) +	

Tab.12. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Eukalyptusöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirk- zeit in Min.	Mittelkonzentration in %			Keim- kontr.
		10	1	0,1	
Staphylococcus aureus haemoly- ticus SG 511	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	
E. coli	2,5	(o) o	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(+) +	(+) +	
	60	(o) o	(+) +	(+) +	
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	

Zeichenerklärung: + = Wachstum nach 48 Stunden
 o = Kein Wachstum nach 48 Stunden
 () = Ergebnis nach 24 Stunden.

Tab.13. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Nelkenöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirk- zeit in Min.	Mittelkonzentration in %			Keim- kontr.
		10	1	0,1	
Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511	2,5	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(o) o	(+) +	
	60	(o) o	(o) o	(+) +	
Enterokokken	2,5	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(o) o	(+) +	
	60	(o) o	(o) o	(+) +	
E. coli	2,5	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(o) o	(+) +	
	60	(o) o	(o) o	(+) +	
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +
	15	(o) o	(o) o	(+) +	
	60	(o) o	(o) o	(o) o	

Tab.14. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von Zitronenöl nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirk- zeit in Min.	Mittelkonzentration in %			Keim- kontr.
		10	1	0,1	
Staphylococcus aureus haemolyticus SG 511	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	
E. coli	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(o) o	(+) +	(+) +	
Pseudomonas pyocyanea	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +
	15	(+) +	(+) +	(+) +	
	60	(+) +	(+) +	(+) +	

Zeichenerklärung: + = Wachstum nach 48 Stunden
o = Kein Wachstum nach 48 Stunden
() = Ergebnis nach 24 Stunden.

Tab.15. Prüfung der keimtötenden Eigenschaften von
Allylsenfö1 nach der Suspensionsmethode

Testkeim	Einwirk- zeit in Min.	Mittelkonzentration in ‰					Keim- kontr.
		10	1	0,1			
Staphylococcus aureus haemoly- ticus SG 511	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(o) o	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +	
Enterokokken	2,5	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +	
E. coli	2,5	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +		
	15	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +		
	60	(o) o	(o) o	(+) +	(+) +	(+) +	
Pseudomonas pyocyanea	25,	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	15	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +		
	60	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +	(+) +	

Zeichenerklärung: + = Wachstum nach 48 Stunden
o = Kein Wachstum nach 48 Stunden
() = Ergebnis nach 24 Stunden.

III. Austestung der virusinaktivierenden Eigenschaften

1. Toxizitätsprüfung

Vor dem eigentlichen Beginn der Tierversuche wurde die Toxizität der Testöle in drei Konzentrationen (5 %, 0,5 % und 0,05 % im Ansatz) und für drei Applikationsarten (intrazerebral, intranasal und subkutan) an weißen Mäusen geprüft.

Materialvorbereitung:

In sterilen Reagenzgläsern sind von jedem ätherischen Öl drei verschiedene Konzentrationen hergestellt worden, unter Verwendung steriler Ringerlösung als Verdünnungsmittel.

10 %: 0,5 ml konz. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung

1 %: 0,5 ml 10-%ig. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung

0,1%: 0,5 ml 1-%ig. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung.

Es wurden mit Watte gestopfte Kahn-Röhrchen, Tuberkulinspritzen sowie 12er- und 20er-Kanülen und Tropfpipetten sterilisiert.

Ausführung:

In Kahn-Röhrchen wurden Ölverdünnungen von 5 %, 0,5 % und 0,05 % im Ansatz mit steriler Ringerlösung hergestellt. Wie in allen weiteren Untersuchungen dienten ca. 20 g schwere Albinomäuse als Versuchstiere. Die Toxizitätsprüfung erfolgte mit jeweils 2 Mäusen je Ölkonzentration und Applikationsart. Den in einem Glasgefäß mit Äther betäubten Mäusen wurden die gewünschten Ölkonzentrationen folgendermaßen appliziert:

- a) intracerebrale Injektion von 0,03 ml der jeweiligen Ölemulsion mittels steriler Spritze mit 20er-Kanüle;
- b) intranasale Gabe von 0,1 ml (= 3-4 Tropfen) mittels steriler Tropfpipette;
- c) subkutane Injektion von 0,2 ml mittels 12er-Kanüle unter die Nackenhaut.

Die Tiere wurden täglich einmal mit Altromin gefüttert und mit frischem Leitungswasser versorgt. Die Beobachtungszeit dauerte 21 Tage, wobei die Todeszeiten der einzelnen Tiere genau vermerkt wurden.

Ergebnis der Toxizitätsprüfungen

Es überlebten alle Tiere mit Ausnahme derjenigen, denen 5-%iges Allylsenföl appliziert worden war. Mehrfache Wiederholung der Toxizitätsprüfung mit 5-%igem Allylsenföl ergab, daß die Hälfte der Tiere überlebte,

während der Rest schon nach 20 Stunden starb. Aus den Ergebnissen der Tierversuche ist zu folgern, daß Allylsenöl in einer Konzentration von 5 % in jeder Applikationsart toxisch wirkt, während die übrigen ätherischen Öle in den verwendeten Konzentrationen atoxisch waren.

2. Qualitative Prüfung der Virusinaktivierung

Die virusinaktivierende Wirkung der ätherischen Öle ist an vier verschiedenen Virusarten ausgetestet worden. Das virushaltige Material wurde durch Präparation von Organen typisch gestorbener Albinomäuse gewonnen, in denen sich das Virus auf Grund seiner Spezifität maximal angereichert hatte. Das virushaltige Gewebe wurde in Glycerin-Kochsalz-Lösung bei -20°C in der Tiefkühltruhe aufbewahrt und vor Versuchsbeginn zunächst bei -2°C , dann bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Eisschrank aufgetaut.

a) Theiler-Viren

Materialvorbereitung:

Drei Gehirne (Einzelgewicht 0,3 g) von Theiler-infizierten und typisch gestorbenen weißen Mäusen wurden in einer sterilen Schüttelflasche mit 8,1 ml steriler Ringerlösung in eine gleichmäßig feine Suspension überführt, was einer Viruskonzentration von 10^{-1} entspricht. Die überstehende Flüssigkeit wurde mit steriler Pipette abgehoben und in einem sterilen Röhrchen 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Überstand im Zentrifugenglas ist dann im Verhältnis 1:500 verdünnt worden.

1:100:1 ml Virussuspension 10^{-1} + 9 ml sterile Ringerlösung

1:500:2 ml " 10^{-2} + 8 ml " "

Von jedem Testöl wurden drei verschiedene Konzentrationen hergestellt.

10 % : 0,5 ml konz. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung

1 % : 0,5 ml 10-%ig. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung

0,1%: 0,5 ml 1-%ig. Öl + 4,5 ml ster. Ringerlösung.

Ausführung:

2 ml jeder Ölkonzentration wurden mit 2 ml der virushaltigen Organsuspension 1:500 in sterilen Kahn-Röhrchen gut vermischt, so daß die Viruskonzentration 10^{-3} und die der Öle 5 %, 0,5 % und 0,05 % betrug.

Nach 30 Minuten und 120 Minuten Einwirkzeit bei Zimmertemperatur (um 20°C) wurden die mit Äther betäubten Albinomäuse mit 0,03 ml des jeweiligen Öl-Virus-Gemisches intrazerebral beimpft. Die Einzelkollektive bestanden aus fünf Tieren gleicher Herkunft, gleichen Alters und gleichen Geschlechts.

Während der 3-wöchigen Versuchsdauer sind die Todeszeiten der Tiere ge-

nau notiert worden.

Kontrolle:

Zehn Albinomäuse wurden mit 0,03 ml einer 10^{-3} konzentrierten Theiler-Virus-Suspension (2 ml Virussuspension 1:500 + 2 ml sterile Ringerlösung) intrazerebral infiziert. Außer der Viruskontrolle lief parallel zu allen Tierversuchen die oben beschriebene Toxizitätskontrolle mit. Tab.16 gibt das Versuchsprotokoll der Untersuchungen an Theilerviren wieder. Die dazu gehörende statistische Auswertung erscheint in den Tabellen 17-23.

Statistische Auswertung

Ausgehend von der Voraussetzung, daß eine Verminderung aktiver Virus-einheiten oder eine Abschwächung der Virulenz der Viren zu einer Verlängerung der Überlebenszeit der mit ätherischen Ölen behandelten Mäuse im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren führt, wurden folglich die Überlebenszeiten in den behandelten und unbehandelten Kollektiven miteinander verglichen. Die statistische Auswertung aller Tierversuche, soweit sie über die Virus-inaktivierende Wirkung nur qualitativ Auskunft geben sollen, erfolgte durch einseitige Anwendung des X-Testes nach Van der Waerden und Nievergelt (47). Für eine quantitative Aussage wurde ein Teil der Versuche nach Reed und Muench (38) ausgewertet, wobei den Ti-terdifferenzen zwischen LD_{50} -Werten der Kontrollen und denen der Versuche nach den Berechnungen von Drees (10) bestimmte Inaktivierungsgrade zugeordnet werden.

Tab.16. Prüfung der inaktivierenden Wirkung ätherischer Öle (5, 0,5 und 0,05-proz.) auf Theiler-Viren im Tierversuch

Mittel in %	Überlebenszeit in Stunden										
	nach 30 min Einwirkzeit					nach 120 min Einwirkzeit					
	Tier Nr. 1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Lavendelöl	5	52	68	68	93	102	36	68	x	x	x
	0,5	44	68	68	68	119	68	93	102	x	x
	0,05	44	47	68	68	68	48	68	68	77	116
Anisöl	5	44	44	45	45	70	44	44	46	46	68
	0,5	20	20	29	44	45	44	44	47	47	49
	0,05	23	27	44	44	49	27	28	44	44	68
Pfeffer- minzöl	5	20	29	49	68	93	68	68	70	93	x
	0,5	44	48	68	71	76	68	78	93	x	x
	0,05	44	45	68	68	119	46	68	73	93	117
Eukalyp- tusöl	5	44	45	45	68	68	48	50	68	68	116
	0,5	44	46	71	93	102	51	68	71	71	116
	0,05	44	45	45	47	68	44	46	68	188	x
Nelkenöl	5	93	102	404	x	x	71	333	500	x	x
	0,5	44	44	212	x	x	44	236	404	x	x
	0,05	44	44	44	51	68	44	68	68	71	93
Zitronenöl	5	44	44	46	102	116	44	68	68	102	119
	0,5	44	46	50	68	93	44	50	68	93	116
	0,05	44	44	49	68	102	44	44	93	117	476
Allylsenf- öl	5	20	20	20	20	44	20	20	20	44	44
	0,5	44	44	44	44	44	44	68	68	68	68
	0,05	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
Viruskon- trolle											
Tier Nr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		29	29	44	44	44	48	48	68	68	68

Zeichenerklärung: x = Tier überlebte nach 21 Tagen.

Tab.17. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Lavendelöl auf Theiler-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 16).

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	2,82	>2,5	3,06	o
120	0,05	0/5	15	3,53	2,5-1,0	3,06	+
30		0/5	15	2,78	>2,5	3,06	o
120	0,5	2/5	15	4,48	<0,5	3,88	+++
30		0/5	15	3,69	1,0-0,5	3,57	++
120	5	3/5	15	3,09	2,5-1,0	3,06	+

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere

n = Zahl der Tiere im Versuch

x = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in % bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+

= schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.18. Prüfung der qualitativen Wirkung von Anisöl auf Theiler-Viren im Tierversuch
(statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

E	Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
	30	0,05	0/5	15	2,33	>2,5	3,06	o
	120		0/5	15	1,95	>2,5	3,06	o
	30	0,5	0/5	15	3,12	2,5-1,0	3,06	+
	120		0/5	15	0,18	>2,5	3,06	o
	30		0/5	15	0,68	>2,5	3,06	o
	120		0/5	15	0,68	>2,5	3,06	o

5

Zeichenerklärung:

v = $\frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.19. Prüfung der qualitativen Wirkung von Pfefferminzöl auf Theiler-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	2,19	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	3,66	1,0-0,5	3,57	++
30		0/5	15	2,68	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		2/5	15	4,48	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	0,22	> 2,5	3,06	o
	5						
120		1/5	15	4,23	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

$v = \frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$
 $n = \text{Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)}$
 $x = \text{Testgröße}$

$p = \text{Irrtumswahrscheinlichkeit in \% bei einseitiger Anwendung des x-Testes}$
 $+++ = \text{stark gesicherte Wirkung}$
 $++ = \text{gesicherte Wirkung}$
 $+$ = schwach gesicherte Wirkung
 $o = \text{Wirkung nicht gesichert.}$

Tab.20. Prüfung der qualitativen Wirkung von Eukalyptusöl auf Theiler-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	0,46	> 2,5	3,06	o
120		1/5	15	2,52	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,82	> 2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	3,98	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	1,14	> 2,5	3,06	o
120		0/5	15	2,94	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.21. Prüfung der qualitativen Wirkung von Nelkenöl auf Theiler-Vieren im Tierversuch. (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	0,29	2,5	3,06	o
120	0,05	0/5	15	3,65	1,0-0,5	3,57	++
30		2/5	15	2,56	>2,5	3,06	o
120	0,5	2/5	15	3,65	1,0-0,5	3,57	++
30		2/5	15	4,73	<0,5	3,88	+++
120	5	2/5	15	4,73	<0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
= Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.22. Prüfung der qualitativen Wirkung von Zitronenöl auf Theiler-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	1,64	>2,5	3,06	o
120		0/5	15	2,56	>2,5	3,06	o
30		0/5	15	1,90	>2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	2,84	2,5-1,0	3,06	+
30		0/5	15	1,67	>2,5	3,06	o
120	5	0/5	15	3,10	2,5-1,0	3,06	+

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.23. Prüfung der qualitativen Wirkung von Allylsenföhl auf Theiler-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.16)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	1,28	> 2,5	3,06	o
120		0/5	15	1,28	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	1,28	> 2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	2,38	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	4,16	< 0,5	3,88	+++
120	5	0/5	15	3,57	1,0	3,57	++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

b) Herpes-Viren

Materialvorbereitung:

Drei Gehirne von Herpes-infizierten und in charakteristischer Weise gestorbenen Albinomäusen wurden nach der für die Theiler-Viren beschriebenen Methode behandelt.

Ausführung:

Der Versuch wird in der für die Theiler-Viren angegebenen Weise durchgeführt.

Kontrolle:

Zehn Albinomäuse wurden mit 0,03 ml einer 10^{-3} verdünnten Herpes-Virus-Suspension intrazerebral infiziert.

Das Versuchsprotokoll gibt Tabelle 24 wieder, die statistische Auswirkung erscheint in den Tabellen 25-31.

Tab.24. Prüfung der inaktivierenden Wirkung ätherischer Öle auf Herpes-Viren im Tierversuch

Mittel in %	Überlebenszeit in Stunden										
	Tier Nr.1	nach 30 min Einwirkzeit					nach 120 min Einwirkzeit				
		2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Lavendelöl											
5	140	140	140	140	145	116	164	236	260	x	
0,5	72	140	140	140	260	164	164	164	188	284	
0,05	116	116	140	164	240	164	260	308	308	309	
Anisöl											
5	116	140	189	213	284	120	164	212	260	332	
0,5	68	147	188	217	284	92	116	140	236	308	
0,05	72	92	116	116	140	72	92	116	167	193	
Pfefferminzöl											
5	140	164	197	236	380	68	140	236	236	284	
0,5	140	166	212	212	236	140	140	188	188	212	
0,05	92	148	164	164	264	116	164	167	188	284	
Eukalyptusöl											
5	72	140	197	308	x	164	164	168	188	236	
0,5	140	188	188	212	232	116	143	188	284	x	
0,05	92	212	212	243	288	140	143	197	284	376	
Nelkenöl											
5	92	145	188	197	212	143	188	188	212	236	
0,5	68	116	188	212	404	116	188	197	240	476	
0,05	92	116	188	264	308	92	92	140	167	260	
Zitronenöl											
5	116	164	193	212	356	68	72	212	x	x	
0,5	140	140	164	164	188	116	212	236	284	356	
0,05	92	116	164	164	188	188	232	338	x	x	
Allylsenföl											
5	20	20	20	92	164	20	20	20	116	260	
0,5	44	116	116	116	164	73	92	117	164	236	
0,05	92	140	164	188	212	92	164	164	212	236	
Viruskontrolle											
Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	92	116	140	142	143	143	164	188	212	-	

Zeichenerklärung: x = Tier überlebte nach 21 Tagen.

Tab.25. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Lavendelöl auf Herpes-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	14	0,03	> 2,5	3,00	o
	0,05						
120		0/5	14	4,07	< 0,5	3,76	+++
30		0/5	14	1,04	> 2,5	3,00	o
	0,5						
120		0/5	14	1,76	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	1,16	> 2,5	3,00	o
	5						
120		1/5	14	2,64	> 2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Ver-
such (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.26. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Anisöl auf Herpes-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.24)

Einwirkzeit Mittelkonz. in Min. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0/5	14	3,34	2,5-1,0	3,00	o
	0,05					
120	0/5	14	1,27	> 2,5	3,00	o
30	0/5	14	1,72	> 2,5	3,00	o
	0,5					
120	0/5	14	0,24	> 2,5	3,00	o
30	0/5	14	1,73	> 2,5	3,00	o
	5					
120	0/5	14	2,71	> 2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
= Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Ver-
such (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.27. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Pfefferminzöl auf Herpes-Vieren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	14	1,14	> 2,5	3,00	o
120		0/5	14	1,85	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	1,31	> 2,5	3,00	o
120	0,5	0/5	14	1,11	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	2,67	> 2,5	3,00	o
120	5	0/5	14	1,43	> 2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = $\frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.28. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Eukalyptusöl auf Herpes-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	14	2,57	> 2,5	3,00	o
120	0,05	0/5	14	2,50	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	2,61	> 2,5	3,00	o
120	0,5	1/5	14	2,08	> 2,5	3,00	o
30		1/5	14	1,21	> 2,5	3,00	o
120	5	0/5	14	2,83	> 2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
v = Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.29. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Nelkenöl auf Herpes-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	14	1,10	> 2,5	3,00	o
	0,05						
120		0/5	14	0,43	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	1,00	> 2,5	3,00	o
	0,5						
120		0/5	14	3,87	< 0,5	3,76	+++
30		0/5	14	1,74	> 2,5	3,00	o
	5						
120		0/5	14	3,41	2,5-1,0	3,00	+

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Zahl der Tiere im Versuch
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 30. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Zitronenöl auf Herpes-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	14	0,19	> 2,5	3,00	o
	0,05						
120		2/5	14	4,24	< 0,5	3,76	+++
30		0/5	14	0,58	> 2,5	3,00	o
	0,5						
120		0/5	14	3,00	> 2,5	3,00	+
30		0/5	14	2,29	> 2,5	3,00	o
	5						
120		2/5	14	0,73	2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Zahl der Tiere im Versuch
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlich in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 31. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Allylsenfö1 auf Herpes-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 24)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	14	0,55	> 2,5	3,00	o
	0,05						
120		0/5	14	1,68	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	2,38	> 2,5	3,00	o
	0,5						
120		0/5	14	0,88	> 2,5	3,00	o
30		0/5	14	0,21	> 2,5	3,00	o
	5						
120		0/5	14	2,29	> 2,5	3,00	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

c) EMC-Viren

Materialvorbereitung:

Drei Gehirne von EMC-infizierten und unter typischen Erscheinungen eines EMC-Infekts gestorbenen Mäusen wurden nach der für die Theiler-Viren beschriebenen Methode behandelt.

Ausführung:

Der Versuchsansatz erfolgte in der für die Theiler-Viren angegebenen Weise. Nach Einwirkungszeiten von 30 und 120 Minuten sind je fünf Albinomäuse subcutan mit 0,2 ml des betreffenden Öl-Virus-Gemisches beimpft worden.

Kontrolle:

Zehn Albinomäuse wurden subcutan mit 0,2 ml einer 10^{-3} verdünnten EMC-Virus-Suspension infiziert.

Das Versuchsprotokoll gibt Tabelle 32 wieder, die statistische Auswertung erscheint in den Tabellen 33-39.

Tab.32. Prüfung der inaktivierenden Wirkung ätherischer Öle auf EMC-Viren im Tierversuch

Mittel in %	Überlebenszeit in Stunden									
	nach 30 min Einwirkzeit					nach 120 min Einwirkzeit				
	Tier Nr. 1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Lavendelöl										
5	68	68	70	70	74	51	51	68	92	308
0,5	52	68	68	74	116	68	92	140	x	x
0,05	51	51	68	92	x	48	68	68	70	71
Anisöl										
5	68	68	68	68	116	92	92	93	93	x
0,5	46	46	51	68	140	68	68	70	75	140
0,05	51	68	68	74	140	92	92	380	476	x
Pfefferminzöl										
5	51	68	68	68	73	68	92	92	92	380
0,5	51	68	68	92	92	92	92	140	x	x
0,05	68	68	73	75	356	68	92	92	140	260
Eukalyptusöl										
5	51	51	68	70	92	68	68	92	93	140
0,5	51	51	68	68	68	74	92	92	140	167
0,05	68	68	68	68	72	68	68	68	74	92
Nelkenöl										
5	244	244	365	452	x	164	x	x	x	x
0,5	68	68	75	140	x	68	260	365	x	x
0,05	68	68	68	70	116	188	481	x	x	x
Zitronenöl										
5	51	51	68	68	68	68	68	70	75	x
0,5	68	68	68	115	x	68	68	68	68	70
0,05	51	68	68	68	x	68	68	71	74	93
Allylsenfö1										
5	26	26	26	26	29	26	92	92	92	92
0,5	68	68	68	68	75	68	69	71	71	140
0,05	68	68	68	92	92	68	68	92	92	92
Viruskontrolle										
Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	68	75	92	92	92	92	116	116	117	117

Zeichenerklärung: x = Tier überlebte nach 21 Tagen.

Tab. 33. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Lavendelöl auf EMC-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		1/5	15	1,61	> 2,5	3,06	o
120	0,05	0/5	15	4,15	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	3,14	2,5-1,0	3,06	+
120	0,5	2/5	15	1,90	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	3,86	1,0-0,5	3,57	++
120	5	0/5	15	1,93	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
v = Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.34. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Anisöl auf EMC-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	2,30	> 2,5	3,06	o
120		1/5	15	2,73	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,62	> 2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	1,93	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,89	> 2,5	3,06	o
120	5	1/5	15	1,17	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Zahl der Tiere im Versuch

x = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

o = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 35. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Pfefferminzöl auf EMC-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	1,93	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	0,85	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	3,17	2,5-1,0	3,06	+
	0,5						
120		2/5	15	2,73	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	4,25	< 0,5	3,88	+++
	5						
120		0/5	15	0,31	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 36.. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Eukalyptusöl auf EMC-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	4,10	<0,5	3,88	+++
	0,05						
120		0/5	15	3,51	2,5-1,0	3,06	+
30		0/5	15	4,46	<0,5	3,88	+++
	0,5						
120		0/5	15	0,94	>2,5	3,06	o
30		0/5	15	3,79	1,0-0,5	3,57	++
	5						
120		0/5	15	0,69	>2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = $\frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 37. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Melkenöl auf EMC-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	2,29	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		3/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
30		1/5	15	0,28	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		2/5	15	2,90	> 2,5	3,06	o
30		1/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
	5						
120		4/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
v = Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 38. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Zitronenöl auf EMC-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		1/5	15	2,40	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	3,05	> 2,5	3,06	o
30		1/5	15	1,33	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		0/5	15	4,10	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	4,46	< 0,5	3,88	+++
	5						
120		1/5	15	1,93	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 39. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Allylsenöl auf EMC-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 32)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	3,01	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	2,38	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	4,02	< 0,5	3,88	+++
	0,5						
120		0/5	15	1,86	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
	5						
120		0/5	15	1,86	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = Gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

d) Influenza-Viren

Materialvorbereitung:

Drei Lungen von Influenza-infizierten und unter charakteristischen Symptomen gestorbenen Albinomäusen wurden mit etwas Quarzsand und 8,1 ml steriler Ringerlösung in einem sterilen Mörser fein zerkleinert. Je Lunge wurden 2,7 ml Verdünnungsmittel verwendet, um eine Viruskonzentration von 10^{-1} zu erreichen.

Nach dem Zentrifugieren dieser Suspension für 1-2 Minuten bei 1000 Umdrehungen wurde die überstehende Flüssigkeit im Verhältnis 1:500 verdünnt. Von jedem Testöl sind drei Verdünnungen hergestellt worden (10 %, 1 % und 0,1 %).

Ausführung:

Die verschiedenen Ölverdünnungen wurden zu gleichen Teilen mit der virushaltigen Organsuspension (1:500) gut vermischt, so daß die Viruskonzentration 10^{-3} und die der Öle 5 %, 0,5 % und 0,05 % im Ansatz betrug.

Nach 30 Minuten und 120 Minuten Einwirkzeit bei Zimmertemperatur (um 20°C) erfolgte bei den mit Äther betäubten Mäusen die intranasale Instillation von je 3-4 Tropfen dieses Reaktionsgemisches.

Kontrolle:

Zehn weiße Mäuse wurden mit je 3-4 Tropfen einer 10^{-3} konzentrierten Influenza-Virus-Suspension intranasal beimpft.

Tabelle 40 gibt das Protokoll der Untersuchungen mit Influenzaviren wieder, die statistische Auswertung erscheint in den Tabellen 41-47.

Tab.40. Prüfung der inaktivierenden Wirkung ätherischer Öle auf Influenza-Viren im Tierversuch

Mittel in %	Tier Nr.	Überlebenszeit in Stunden									
		nach 30 min Einwirkzeit					nach 120 min Einwirkzeit				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Lavendelöl											
5		72	92	188	212	284	102	116	239	260	380
0,5		20	68	72	74	240	72	92	92	116	239
0,05		68	68	79	79	284	72	92	92	92	116
Anisöl											
5		68	79	79	102	196	92	92	102	116	316
0,5		48	72	75	92	102	68	68	79	92	236
0,05		68	68	68	68	92	68	72	79	92	242
Pfefferminzöl											
5		74	118	164	236	316	188	218	284	452	500
0,5		68	74	79	94	164	92	116	164	164	362
0,05		68	68	68	72	216	68	68	75	212	452
Eukalyptusöl											
5		74	140	140	164	164	116	192	236	284	x
0,5		44	44	44	72	116	52	52	72	140	169
0,05		44	74	76	76	92	44	68	72	164	260
Nelkenöl											
5		68	116	116	164	212	188	216	452	500	500
0,5		79	92	93	146	167	92	141	188	212	212
0,05		44	52	79	92	102	68	72	74	102	256
Zitronenöl											
5		102	116	126	164	236	102	140	195	356	x
0,5		44	68	79	102	212	72	79	116	236	261
0,05		48	48	68	68	126	79	79	93	93	164
Allylsenföl											
5		20	20	20	188	212	20	20	20	447	x
0,5		212	212	232	380	380	188	212	212	236	380
0,05		116	116	212	212	x	236	236	236	236	x
Viruskontrolle											
Tier Nr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		68	72	74	74	74	79	102	102	102	102

Zeichenerklärung: x = Tier überlebte nach 21 Tagen.

Tab.4). Ermittlung der qualitativen Wirkung von Lavendelöl auf Influenza-Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	0,53	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	0,99	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	1,68	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		0/5	15	1,82	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,55	> 2,5	3,06	o
	5						
120		0/5	15	4,40	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)
x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 42. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Anisöl auf Influenza-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	3,29	2,5-1,0	3,06	+
	0,05						
120		0/5	15	0,19	>2,5	3,06	o
30		0/5	15	1,04	>2,5	3,06	o
	0,5						
120		0/5	15	0,45	>2,5	3,06	o
30		0/5	15	0,89	>2,5	3,06	o
	5						
120		0/5	15	3,03	>2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

$v = \frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$

$n = \text{Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)}$

$x = \text{Testgröße}$

$p = \text{Irrtumswahrscheinlichkeit in \%}$
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.43. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Pfefferminzöl auf Influenza-,
Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	2,06	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	0,30	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	0,18	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		0/5	15	4,08	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	3,65	1,0-0,5	3,57	++
	5						
120		0/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Zahl der Tiere im Versuch

x = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 44. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Eukalyptusöl auf Influenza-
Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30		0/5	15	1,29	> 2,5	3,06	o
	0,05						
120		0/5	15	0,45	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,45	> 2,5	3,06	o
	0,5						
120		0/5	15	0,58	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	3,65	1,0-0,5	3,57	++
	5						
120		1/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Zahl der Tiere im Versuch

x = Gesamtzahl der Tiere im Ver-
such (einschl. Kontrollen)

o = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 45. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Nelkenöl auf Influenza-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	0,75	> 2,5	3,06	o
120		0/5	15	0,13	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	2,60	> 2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	4,08	< 0,5	3,88	+++
30		0/5	15	2,90	> 2,5	3,06	o
120	5	0/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
Zahl der Tiere im Versuch

n = Gesamtzahl der Tiere im Ver-
such (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = Gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab.46. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Zitronenöl auf Influenza-Viren
im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab.40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	0/5	15	2,52	> 2,5	3,06	o
120		0/5	15	1,69	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	0,16	> 2,5	3,06	o
120	0,5	0/5	15	2,47	> 2,5	3,06	o
30		0/5	15	4,40	< 0,5	3,88	+++
120	5	1/5	15	4,40	< 0,5	3,88	+++

Zeichenerklärung:

v = $\frac{\text{Zahl der überlebenden Tiere}}{\text{Zahl der Tiere im Versuch}}$

n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes

+++ = stark gesicherte Wirkung

++ = gesicherte Wirkung

+ = schwach gesicherte Wirkung

o = Wirkung nicht gesichert.

Tab. 47. Ermittlung der qualitativen Wirkung von Allylsenfö1 auf Influenza-
Viren im Tierversuch (statistische Analyse zum Versuchsprotokoll Tab. 40)

Einwirkzeit in Min.	Mittelkonz. im Ansatz %	v	n	x	p	Schranke für x	Wirkung
30	0,05	1/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
120		1/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
30	0,5	0/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
120		0/5	15	4,73	< 0,5	3,88	+++
30	5	0/5	15	0,89	> 2,5	3,06	o
120		1/5	15	0,89	> 2,5	3,06	o

Zeichenerklärung:

v = Zahl der überlebenden Tiere
n = Gesamtzahl der Tiere im Versuch (einschl. Kontrollen)

x = Testgröße

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in %
bei einseitiger Anwendung des x-Testes
+++ = stark gesicherte Wirkung
++ = gesicherte Wirkung
+ = schwach gesicherte Wirkung
o = Wirkung nicht gesichert.

3. Quantitative Prüfung der Virusinaktivierung

Durch die vorausgegangenen Versuche sollte lediglich festgestellt werden, ob ein aetherisches Öl in einer bestimmten Konzentration und nach einer bestimmten Einwirkzeit in der Lage war, einen signifikanten Einfluß im Sinne einer Inaktivierung auf die Testviren auszuüben, d.h. die Versuche waren nur qualitativ auszuwerten.

Da aber auch eine Aussage über den Wirkungsgrad der angewandten Mittel von Interesse ist, wurde das augenscheinlich wirksamste ätherische Öl einer weiteren Untersuchung unterworfen, um die Virusinaktivierung quantitativ erfassen zu können, und zwar durch Berechnung der LD_{50} . Das ist diejenige Verdünnung einer bestimmten Menge eines Gemisches von Virussuspension und ätherischem Öl, nach dessen Applikation 50 % der Tiere eingehen.

Zur Feststellung der LD_{50} einer mit Nelkenöl behandelten Theilervirus-Suspension wurde das Virus-Öl-Gemisch in geometrischer Reihe verdünnt und Albinomäusen intracerebral eingespritzt.

Materialvorbereitung:

In der oben für die Untersuchungen mit Theilerviren beschriebenen Weise wurde eine 1:500 verdünnte Virussuspension hergestellt. Nelkenöl wurde im Verhältnis 1:10 verdünnt.

Ausführung:

Ein aus gleichen Teilen bestehendes Gemisch von Virussuspension 1:500 und Nelkenöl (10-proz.) wurde nach einer Einwirkzeit von 120 Minuten bei Zimmertemperatur in geometrischer Reihe verdünnt, so daß sich Viruskonzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-12} ergaben.

Theiler-Virus 10^{-4} :

0,2 ml (Virussuspension 1:500 + 10-proz. Nelkenöl)
+ 1,8 ml sterile Ringerlösung.

Theiler-Virus 10^{-5} :

0,2 ml Theiler-Virus 10^{-4} + 1,8 ml sterile Ringerlösung.

Je fünf weißen Mäusen wurden 0,03 ml der jeweiligen Virus-Öl-Konzentration intracerebral injiziert.

Kontrolle:

Ein Gemisch gleicher Teile Virussuspension 1:500 und steriler Ringer-

Lösung wurde nach 120 Minuten Aufbewahrung bei Zimmertemperatur (um 20°C) in verschlossenem Gefäß in geometrischer Reihe weiterverdünnt. Aus jeder Virusverdünnungsstufe ist jeweils einem Kollektiv von fünf weißen Mäusen eine Menge von 0,03 ml (pro Maus) intracerebral injiziert worden. Nach 21-tägiger Versuchsdauer wurde nur der Tod bzw. das Überleben der Tiere notiert.

Die Berechnung der LD_{50} erfolgte nach REED und MUENCH (38) (Versuchsprotokoll in Tabelle 48; statistische Berechnung in den Tabellen 49 und 50). Als Wirkungskriterium dient die Differenz zwischen dem LD_{50} -Wert der Kontrolle und dem des Versuchs. Gemäß der von DREES (10) berechneten Streuung der LD_{50} -Titerbestimmungen werden den Titerdifferenzen folgende Inaktivierungseffekte zugeordnet, wobei ein Effekt von weniger als 90 % als nicht signifikant zu werten ist.

log Titerdifferenz ^{x)}	Inaktivierungseffekt
0-0,9	<90 %
1,0-1,9	90 %
2,0-2,9	99 %
3,0-3,9	99,9 %
> 4,0	>99,9 %

^{x)} neg. log LD_{50} der Kontrolle minus neg. log LD_{50} des Versuchs.

Für die LD_{50} des Versuchsansatzes erhielten wir den Wert von $0,233 \cdot 10^{-4}$, die LD_{50} der Kontrolle betrug $0,624 \cdot 10^{-6}$. Das entspricht einer log Titerdifferenz von ca. 2,0 und damit einem Inaktivierungseffekt von mindestens (bzw. mehr als) 99 %.

Tab. 48. Ermittlung der LD_{50} eines Theilervirus-Nelkenöl-Gemisches im Tierversuch

Virus- verdün- nung im Ansatz log 10	Mittel- konz. im An- satz %	Einwirkzeit 120 Min.					Virus- verdün- nung im Ansatz log 10	Kontrolle					
		Tier Nr. 1	2	3	4	5		Tier Nr. 1	2	3	4	5	
-3	5	+	+	+	0	0	-3	+	+	+	+	+	+
-4	5.10 ⁻¹	+	0	0	0	0	-4	+	+	+	+	+	+
-5	5.10 ⁻²	+	0	0	0	0	-5	+	+	+	+	+	+
-6	5.10 ⁻³	+	0	0	0	0	-6	+	+	+	+	+	0
-7	5.10 ⁻⁴	+	0	0	0	0	-7	+	0	0	0	0	0
-8	5.10 ⁻⁵	0	0	0	0	0	-8	0	0	0	0	0	0
-9	5.10 ⁻⁶	+	0	0	0	0	-9	+	0	0	0	0	0
-10	5.10 ⁻⁷	+	0	0	0	0	-10	0	0	0	0	0	0
-11	5.10 ⁻⁸	+	0	0	0	0	-11	0	0	0	0	0	0
-12	5.10 ⁻⁹	0	0	0	0	0	-12	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung: + = Tier ging während der Beobachtungszeit ein

0 = Tier überlebte die Beobachtungszeit.

Tab.49. Berechnung der LD₅₀ (Auswertung des Versuchsprotokolls Tab.48)

Einwirkzeit 120 Min.						
Virus-verdünnung im Ansatz log 10	über-lebend	tot	über-lebend	tot	tot/Gesamt	Mortalität %
-3	2	3 ↑	2	10	10/12	83,3
-4	4	1	6	7	7/13	53,8
-5	4	1	10	6	6/16	37,5
-6	4	1	14	5	5/19	26,3
-7	4	1	18	4	4/22	18,3
-8	5	0	23	3	3/26	11,5
-9	4	1	27	3	3/30	10,0
-10	4	1	31	2	2/33	6,1
-11	4	1	35	1	1/36	2,7
-12	5	0 ↓	40	0	0/40	0

Abstandsfaktor: 0,233

+ -4,0

log LD₅₀

-4,233

$$LD_{50} = 0,233 \cdot 10^{-4}$$

Tab.50. Berechnung der LD_{50} (Auswertung des Versuchsprotokolls Tab.48)

Virus- verdün- nung im Ansatz %	Kontrolle		über- lebend	tot	tot/Gesamt	Mortalität %
	über- lebend	tot				
-3	0	5	0	21	21/21	100
-4	0	5	0	16	16/16	100
-5	0	5	0	11	11/11	100
-6	1	4	1	6	6/7	85,7
-7	4	1	5	2	2/7	28,5
-8	5	0	10	1	1/11	9,1
-9	4	1	14	1	1/15	6,7
-10	5	0	19	0	0/19	0
-11	5	0	24	0	0/24	0
-12	5	0	29	0	0/29	0

Abstandsfaktor: 0,624

$\frac{+6,0}{-6,624}$

$\log LD_{50}$ -6,624

$$LD_{50} = 0,624 \cdot 10^{-6}$$

E. Diskussion der Versuchsergebnisse

Es wurden in den letzten Jahrzehnten zwar erhebliche Fortschritte auf dem Gebiet der Laboratoriumsdiagnostik der Viruserkrankungen gemacht. Unsere Kenntnisse über die Inaktivierung der Viren als Voraussetzung für eine wirksame Seuchenbekämpfung und Seuchenprophylaxe sind jedoch noch sehr mangelhaft.

Die Mitteilungen über die viruziden Eigenschaften ätherischer Öle sind - wie vorstehend berichtet - äußerst spärlich und erschöpfen sich in Angaben über die virusinaktivierende Wirksamkeit einiger Senföle. Dagegen gibt es zahlreiche Arbeiten, die sich mit den antibakteriellen und fungiziden Eigenschaften ätherischer Öle befassen, deren Erforschung in neuerer Zeit starken Aufschwung erfahren hat.

So stellte sich uns das Problem, Vertreter aus der Stoffklasse der ätherischen Öle hinsichtlich ihrer virusinaktivierenden Eigenschaften zu prüfen. Unsere Untersuchungen wurden mit 7 verschiedenen ätherischen Ölen durchgeführt, nämlich Lavendel-, Anis-, Pfefferminz-, Eukalyptus-, Nelken-, Zitronen- und Allylsenföle.

Wir haben uns zunächst einen Überblick über das antibakterielle Spektrum der ausgewählten ätherischen Öle verschafft. Dabei zeigte Nelkenöl im Reihenverdünnungstest den stärksten bakteriostatischen Effekt vor Allylsenföle (Keime: *Staphylococcus aureus haemolyticus* SG 511, haemolisierende Streptokokken, Enterokokken, *Escherichia coli*, *Pseudomonas pyocyanea* und *Bacillus subtilis*).

Pseudomonas pyocyanea wurde von fast allen ätherischen Ölen in einer Konzentration von 50 % im Wachstum gehemmt; Nelkenöl war dagegen schon in 0,2-proz. Konzentration bakteriostatisch wirksam, Allylsenföle sogar in einer Konzentration von 0,1 %.

Auch bei der Prüfung der bakteriziden Eigenschaften gegenüber grampositiven und gramnegativen Keimen (*Staphylococcus aureus haemolyticus* SG 511, Enterokokken, *Escherichia coli* und *Pseudomonas pyocyanea*) zeigte sich Nelkenöl am wirksamsten: in den Konzentrationen 1 % und 10 % vernichtete es nach allen 3 Einwirkzeiten (2,5, 15 und 60 Min) sämtliche Keime. Die viruziden Eigenschaften ätherischer Öle testeten wir an vier verschiedenen Viren (Theiler-, Herpes, EMC- und Influenzaviren) im Tierversuch. Zur Verwendung kamen Albinomäuse gleicher Herkunft und gleichen Alters. Die Endkonzentration der ätherischen Öle betrug 0,05, 0,5 und 5 %, die Viruskonzentration war mit 10^{-3} konstant.

Überblickt man die Ergebnisse der Tierversuche, so fällt zunächst deren außerordentlich starke Streuung und Unregelmäßigkeit auf, wodurch

die Auswertung ganz erheblich erschwert wird. Die Gründe mögen eines-
teils in den bekannten Problemen liegen, vor die sich jeder Untersucher
durch das Tierexperiment gestellt sieht. In ganz besonderer Weise trifft
dies zu auf das Experiment am v i r u s infizierten Tier. Hier spielen
die komplizierten Wechselbeziehungen von infektiösem Agens und Wirts-
organismus eine nicht unerhebliche Rolle: Erregerart, Pathogenität, Vi-
rulenz, Infektionsdosis auf der einen Seite und Disposition, Empfäng-
lichkeit, Resistenz auf der anderen, wobei eine zufällige Superinfek-
tion, wie sie bei der Länge der Beobachtungszeit durchaus möglich wäre,
nicht einmal berücksichtigt ist. Andererseits dürfte aber auch die ver-
suchungünstige physikochemische Beschaffenheit der Mittel und Reaktions-
ansätze hierzu beigetragen haben. Hier sei besonders auf die inhomogene
Verteilung der ätherischen Öle im Reaktionsgemisch hingewiesen, die im
Extremfall durchaus dazu führen kann, daß ein Kontakt der kleinsten Vi-
ruspartikel mit dem schlecht verteilten Mittel gar nicht erst zustande-
kommt. Aber auch an die Möglichkeit des Übergangs von der Flüssigkeits-
in die Dampfphase des ätherischen Öls und damit eines Wirkungsverlustes
muß gedacht werden. Schließlich ist zu erwägen, daß unter besonders un-
günstigen Verhältnissen durch das Zusammenwirken eines unterschwelligen
toxischen Effektes von Seiten des Mittels und der krankmachenden Eigen-
schaft des infektiösen Agens, eines additiven oder potenzierenden Ef-
fektes also, ein unerwarteter Ausgang des Tierexperiments resultiert
trotz einwandfreier Keim- und Mittelkontrollen. So sind die hier disku-
tierten Experimentalergebnisse von Fehlermöglichkeiten belastet, die
trotz Anwendung statistischer Methoden nur eine sehr zurückhaltende Be-
wertung der Resultate zulassen. Nur unter diesen Vorbehalten soll nach-
folgende Besprechung erfolgen.

Von den mit Theilervirus infizierten Mäusen überlebten einzelne Tiere,
die mit Lavendel-, Pfefferminz-, Eukalyptus- und Zitronenöl behandelt
waren. In fast allen Fällen betrug die Einwirkzeit 120 Minuten. Aus
dieser Beobachtung schließen wir, daß die Virusinaktivierung mit zuneh-
mender Einwirkdauer fortschreitet. Die mit einer nelkenöhlhaltigen Vi-
russuspension infizierten Tiere überlebten in Abhängigkeit von Konzen-
tration und Einwirkzeit des Mittels. 5-proz. Nelkenöl hatte einen Inak-
tivierungseffekt bereits nach 30 Minuten, die übrigen Konzentrationen
erst nach 120 Minuten Einwirkzeit. Die statistische Auswertung aller
Tierversuche erfolgte durch einseitige Anwendung des X-Testes nach Van
der Waerden und Nievergelt (47).

Danach ist die Wirkung von 5-proz. Lavendelöl gesichert nach 30 Minu-
ten und schwach gesichert nach 120 Minuten Einwirkzeit, stark gesichert

jedoch bei 0,5 % nach 120 Minuten. Nach einer Einwirkzeit von 120 Minuten ist die Wirkung von 0,05-proz. Pfefferminzöl gesichert, von 0,5 und 5-proz. Pfefferminzöl stark gesichert. Die Wirkung des 0,5-proz. Eukalyptusöls nach 120 Minuten Einwirkzeit ist stark gesichert. Nelkenöl zeigte in 0,05 und 0,5-proz. Konzentration nach 120 Minuten Einwirkzeit gesicherte Wirkung und in 5-proz. Konzentration stark gesicherte Wirkung. Zitronenöl besitzt 0,5 und 5-proz. nach 120 Minuten Einwirkzeit schwach gesicherte Wirkung. Bei Allylsenföl können toxische Eigenschaften in den angewandten Verdünnungsstufen nicht ausgeschlossen werden. Gegen Herpesviren zeigten die geprüften ätherischen Öle nur geringe Effekte, wobei eine gewisse Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer, nicht jedoch von der Konzentration des Mittels erkennbar wird. So zeigte Nelkenöl 0,5 und 5-proz. eine stark bzw. schwach gesicherte Wirkung nach 120 Minuten Einwirkungsdauer. Ähnliches gilt für Lavendel- und Zitronenöl, während Anis-, Pfefferminz- und Eukalyptusöl keine gesicherte Wirkung aufwiesen.

Die Versuche mit EMC-Viren hatten insgesamt einen sehr unregelmäßigen Ablauf, so daß auf eine detaillierte Bewertung verzichtet werden soll. Im Gegensatz zu anderen Untersuchern mußten wir erfahren, daß gerade die experimentelle Infektion mit EMC-Viren aus ungeklärten Gründen diesen unerwarteten und oft scheinbar im Widerspruch zur Höhe der Infektionsdosis stehenden Verlauf nahm. Möglicherweise wirkte sich bei unseren Versuchen die subcutane Applikationsform des Virus-Öl-Gemisches besonders ungünstig aus. Lediglich beim Nelkenöl zeichnet sich wieder eine von Dosis und Einwirkungszeit abhängige Wirkung auf EMC-Viren ab. Es hatte in Konzentrationen von 0,05 und 5 % eine stark gesicherte Wirkung nach 120 Minuten Einwirkzeit, 5-proz. hatte es auch nach 30 Min. eine stark gesicherte Wirkung. Für die übrigen Öle war die Wirkung fraglich oder statistisch nicht gesichert.

Auf Influenzaviren hatten die ätherischen Öle (außer Anisöl) einen eindeutigen partiellen Inaktivierungseffekt, und zwar abhängig von Dosis und Einwirkzeit. Lavendelöl zeigte in einer Konzentration von 5 % nach 120 Minuten eine stark gesicherte Wirkung, die auch mit 0,5 und 5-proz. Pfefferminzöl nach 120 Minuten zu erzielen war, während das 5-proz. Öl nach 30 Minuten nur eine gesicherte Wirkung zeigte. Eukalyptusöl, 5-proz. angewandt, hatte nach 30 Minuten Einwirkzeit einen gesicherten und nach 120 Minuten einen stark gesicherten Inaktivierungseffekt. Für 5-proz. Zitronenöl war die Wirkung nach beiden Einwirkzeiten stark gesichert. Dagegen hatte sowohl 0,5 wie 5-proz. Nelkenöl nach 120 Minuten eine stark gesicherte abtötende Wirkung auf Influenzaviren.

Allylsenföl wies in diesem Versuch die stärkste viruzide Wirkung auf in 0,05 und 0,5-proz. Konzentration; für das 5-proz. Öl ist die toxische Wirkung nicht auszuschließen.

Da Nelkenöl als einziges der geprüften ätherischen Öle einen deutlichen von Dosis und Einwirkzeit abhängigen Inaktivierungseffekt auf alle geprüften Virusarten aufwies, prüften wir noch die Wirkung auf Theilerviren quantitativ durch Ermittlung der LD_{50} nach Reed und Muench (38). Dabei betrug die LD_{50} im Versuch $0,233 \cdot 10^{-4}$, die LD_{50} der Kontrolle $0,624 \cdot 10^{-6}$. Daraus errechnet sich eine log Titerdifferenz von ca. 2,0, die nach Drees (10) einem Inaktivierungseffekt von rund 99 % entspricht, welcher als signifikant zu werten ist.

Man kann aus den Versuchen schließen, daß ätherische Öle unter bestimmten Bedingungen in brauchbaren Konzentrationen in der Lage sind, menschenpathogene Viren partiell zu inaktivieren, so daß eine nachfolgende Infektion mit den so behandelten Viren bei den Versuchstieren keine sichtbaren Krankheitssymptome verursachen oder aber zu einer statistisch signifikanten Verlängerung der Überlebenszeit dieser Tiere im Vergleich zu entsprechenden Kontrolltieren führt. Eine vollständige Abtötung der Viren war unter den Versuchsbedingungen jedoch nicht zu erreichen. Der Grad der Inaktivierung ist abhängig von der Art des ätherischen Öls sowie von der angewandten Konzentration und Einwirkzeit. Die verschiedenen Virusarten sprechen unterschiedlich auf eine Behandlung mit ätherischen Ölen an. Herpesviren, die für besonders hohe Resistenz gegenüber chemischen Einwirkungen bekannt sind, zeigten sich auch den hier verwendeten ätherischen Ölen gegenüber als sehr widerstandsfähig.

Aussagen über den Wirkungsmechanismus der Virusinaktivierung durch ätherische Öle lassen diese Untersuchungen nicht zu. Eine allgemeingültige Aussage für alle ätherischen Öle ließe sich ohnehin kaum machen und wäre zur Zeit noch rein spekulativ. Bei der komplizierten chemischen Zusammensetzung der meisten ätherischen Öle ist vielmehr anzunehmen, daß je nach Art der Zusammensetzung des ätherischen Öls vorwiegend eine oder einige wenige Komponenten für die chemische Virusinaktivierung verantwortlich zu machen sind. Aus orientierenden Versuchen mit einzelnen Komponenten des Nelkenöls ist zu schließen, daß einige ätherische Öle Substanzen, vorwiegend höhere Aldehyde, enthalten, mit denen in praktisch brauchbaren Konzentrationen (um 1 %) eventuell eine vollständige Inaktivierung von Viruspartikeln zu erreichen ist. Jedenfalls ist der Wirkungsmechanismus, wie bei den meisten viruswirksamen Substanzen, bisher unbekannt. Ob der Angriff des ätherischen Öls oder seiner Inhaltsstoffe direkt am Viruspartikel selbst erfolgt oder aber an der Wirts-

zelle, wie man aus den Untersuchungen von Sprössig und Schabinski-Stepan (43) für Senföl schließen kann, sei dahingestellt.

F. Z u s a m m e n f a s s u n g

Nach einer Literaturübersicht über die allgemeine Bedeutung und Anwendung ätherischer Öle in der Medizin wird speziell auf deren antimikrobielle Eigenschaften eingegangen. Die Fachliteratur enthält zwar zahlreiche Mitteilungen über Bakteriostase und Bakterizidie sowie Fungistase und Fungizidie durch Wirkung ätherischer Öle, über deren Einfluß auf Viren ist bisher jedoch noch wenig bekannt.

Aufgabe vorliegender Arbeit war es daher, in Modellversuchen an weißen Mäusen den Einfluß verschiedener ätherischer Öle auf pathogene Virusarten zu prüfen. Sieben der bekanntesten ätherischen Öle (Lavendel-, Anis-, Pfefferminz-, Eukalyptus-, Nelken-, Zitronen- und Allylsenföl) in drei verschiedenen Konzentrationen wurden auf diese Weise daraufhin geprüft, ob sie nach 30 beziehungsweise 120 Minuten dauernder Einwirkung auf ungereinigte Theiler-, Herpes-, EMC- und Influenzavirussuspensionen eine Verminderung des Gehaltes an aktivem Virus bewirken können. Ein derartiger Effekt auf eine oder mehrere der geprüften Virusarten war mehr oder weniger mit allen ätherischen Ölen außer einem (Anisöl) zu erzielen. Die Wirkung war auf Theiler- und Influenzaviren besser als auf Herpes- und EMC-Viren. Lediglich Nelkenöl hatte auf a l l e Virusarten einen deutlichen von Dosis und Einwirkungszeit abhängigen partiellen Inaktivierungseffekt. Eine v o l l s t ä n d i g e Abtötung aller Viruspartikel im Reaktionsgemisch war mit keinem der geprüften ätherischen Öle zu erreichen. Dagegen scheinen, wie orientierende Versuche ergaben, einige ätherische Öle Komponenten zu enthalten, die in praktisch brauchbaren Konzentrationen eine totale Virusinaktivierung ermöglichen. Es handelt sich bei diesen Substanzen chemisch um höhere Aldehyde.

Die Versuchsergebnisse werden eingehend diskutiert. Über den Wirkungsmechanismus der Virusinaktivierung durch ätherische Öle oder deren Inhaltsstoffe erlauben die Untersuchungsergebnisse keine Aussage.

G. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) Adam, W. und G.W.Korting:
Biologischer Nachweis der percutanen Resorption eines
Wirkstoffauszuges aus *Cochlearia armoracia* L.
Arch.klin.exp.Derm. 203, 217-222 (1956).
- 2) Akačić, B. und J. Petričić:
Thyminanöl als Anthelminticum.
Pharmazie 11, 628-632 (1956).
- 3) Albrecht, J.:
Vergleichende Desinfektionsmittelprüfungen an
verschiedenen Virusarten.
Arch.Hyg. 141, 460-468 (1957).
- 4) Bingel, K.:
Die experimentelle Virusdesinfektion. Beiträge zur
Hygiene und Epidemiologie.
Heft 10, J.A. Barth-Verlag, Leipzig 1957.
- 5) Boettge, K.:
Ätherische Öle und Spasmolyse.
Med.Mschr. 8, 444-446 (1954).
- 6) Bournot, K.: Vorschläge zum DAB 7. 1. Mitteilung:
Ätherische Öle.
Pharmazie 15, 23-29 (1960).
- 7) Buergi: zitiert nach Wilde, W.:
Dtsch.med.J. 7, 568-569 (1956).
- 8) Carlson, S. und G. Gillissen:
Versuche über die antibakterielle Wirkung von ätheri-
schen Ölen.
Sonderdruck aus Heilkunst 69/11 (1956).
- 9) Drake, M.E., B.Hampil, R.B.Pennell, J.Spizizen, W.Henle
und J.Stokes jr.:
Effect of nitrogen mustard on virus of serum hepatitis
in whole blood (19607), Proc.Soc.exp.Biol. 80, 310-313 (1952).
- 10) Drees, O.:
Experimentelle Beiträge zur Desinfektionsmittelprüfung
bei Poliomyelitis.
Zbl.Bakt. I Orig. 166, 528-545 (1956).
- 11) Eichholtz, F.:
Lehrbuch der Pharmakologie, 9.Auflage, Berlin 1957.
- 12) Faltin, H.:
Abszessbehandlung - konservativ?
Hippokrates 26, 347-348 (1955).
- 13) Fong, J. und E.Bernal, zitiert nach Reddish, G.F.:
Antiseptics, Disinfectants, Fungicides, and Sterilization.
2. Auflage, 450 (1957).

- 14) Germer, W.D.:
Ein neues Präparat für die antibiotische Therapie auf pflanzlicher Grundlage.
Dtsch.med.Wschr. 79, 1445-1448 (1954).
- 15) Gildemeister, E. und F.Hoffmann:
Die ätherischen Öle, Bd. I.
Herausgegeben von Treibs, W., 4.Aufl., Berlin 1956.
- 16) Gönnert, R. und M.Bock:
Zur Resistenz von Viren.
Z.Hyg. 141, 60-63 (1955).
- 17) Halbeisen, Th.:
Untersuchungen über die antibiotischen Wirkstoffe von *Tropaeolum maius* (Kapuzinerkresse).
Naturwissenschaften 41, 378-379 (1954).
- 18) Halbeisen, Th.: zitiert nach Miltitzer:
Berichte über Ätherische Öle, Riechstoffe usw.
Ausgabe 1958, Miltitz bei Leipzig.
- 19) Herriott, R.M.:
Inactivation of viruses and cells by mustard gas.
J.gen.Physiol. 32, 221-239 (1949).
- 20) Kellner, W. und W.Kober:
Möglichkeiten der Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion. 1.Mitt.: Die Wirkung gebräuchlicher ätherischer Öle auf Testkeime.
Arzneimittelforsch. 4, 319-325 (1954).
- 21) dieselben:
Möglichkeiten der Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion. 2.Mitt.: Ermittlung der für die keimtötende Wirkung verantwortlichen Einzelbestandteile relativ unschädlicher ätherischer Öle.
Arzneimittelforsch. 5, 224-229 (1955).
- 22) dieselben:
Möglichkeiten der Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion. 3.Mitt.: Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und keimhemmender Wirkung.
Arzneimittelforsch. 6, 768-772 (1956).
- 23) Kemkes, B., J.Kiendl, M.Kienholz und G.Schimmel:
Elektronenmikroskopische Beobachtungen morphologischer Veränderungen von Tuberkelbakterien nach Einwirkung ätherischer Meerrettichöle.
Z.Hyg.Infekt.Kr. 145, 252-258 (1958).
- 24) Kienholz, M. und B.Kemkes:
Über antibakterielle Stoffe in Pflanzen.
Zbl.Bakt. (I.Abt.Orig.) 167, 610-614 (1957).
- 25) Kienholz, M.:
Untersuchungen über antibakterielle Substanzen aus Meerrettich (*Cochlearia armoracia*), Kapuzinerkresse (*Tropaeolum maius*) und Gartenkresse (*Lepidium sativum*).
Arch.Hyg. 141, 182-197 (1957).

- 26) derselbe:
Über die selektive Wirkung ätherischer Öle auf gram-negative und grampositive Bakterien.
Z.Hyg. 144, 20-26 (1957).
- 27) derselbe:
Zur antibakteriellen Wirkung ätherischer Öle.
Arzneimittelforsch. 9, 519-521 (1959).
- 28) Kircher, H.:
Zur pharmakologischen Grundwirkung der ätherischen Öle.
Inaugural-Dissertation, Tübingen 1938.
- 29) Klessé, P. und P.Lukoschek:
Untersuchungen über die bakteriostatische Wirksamkeit einiger Senföle.
Arzneimittelforsch. 5, 505-507 (1955).
- 30) Kliewe, H. und B.Datz:
Über die antibakterielle Wirkung von Pflanzendrogen.
Pharmazeutische Zentralhalle Deutschland Nr. 33, 521 (1938).
- 31) Kliewe, H. und C.K. Huthmacher:
Über die entwicklungshemmende und keimtötende Kraft von ätherischen Ölen.
Dtsch.Apothekerzeitung 53 (1938).
- 32) Kliewe, H., K.Heicken, B.Schmidt, K.Wagener, J.Wüstenberg, H.Ostertag, L.Grün, Th.Lammers, K.Mülhens:
Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie.
Gustav-Fischer-Verlag (1959).
- 33) Kreitmaier, H.:
Juniperus communis - der Wacholder.
Pharmazie 8, 187-192 (1953).
- 34) Maruzellea, C. und L.Liguori, zitiert nach Miltitzer:
Berichte über ätherische Öle, Riechstoffe usw.
Ausgabe 1959, Miltitz bei Leipzig.
- 35) Mayr, A.:
Geschichtliches und Medizinisches über die ätherischen Öle.
Oest.Apotheker-Zeitung 12, 171-174 (1958).
- 36) Möller, K.O.:
Pharmakologie.
Benno Schwabe & Co. - Verlag Basel/Stuttgart 1961.
- 37) Möse, J.R. und G.Lukas:
Zur Wirksamkeit einiger ätherischer Öle und deren Inhaltstoffe auf Bakterien.
Arzneimittelforsch. 7, 687-692 (1957).
- 38) Reed, L.J. und H.Muench:
A simple method of estimating fifty per cent endpoints.
Amer.J.Hyg. 27, 493-497 (1938).

- 39) Ritzerfeld, W.:
Zur Frage der Wirkung von ätherischen Ölen auf pathogene Mikroorganismen.
Arzneimittelforsch. 9, 521-522 (1959).
- 40) Schmidt, B.:
Untersuchungen zur Frage der keimtötenden Wirkung von Coniferenölen. 2.Mitt.: Coniferenöle als Desinfektionsmittel.
Z.Hyg. 141, 64-70 (1955).
- 41) Schmidt, B. und K.Grossgebauer:
Die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf Viruzidie.
Ges.Wesen und Beruf 55, 3, 33-47 (1963).
- 42) Skramlik, E.v.:
Über die Giftigkeit und Verträglichkeit von ätherischen Ölen.
Pharmazie 14, 435-445 (1959).
- 43) Sprössig, M. und M.Schabinski-Stepan:
Einfluß des Wirkstoffes auf der Kapuzinerkresse auf die intracelluläre Virussynthese.
Z.Hyg. 143, 215-222 (1956)
- 44) Stickl, H.:
Experimentelle und klinische Erfahrungen mit einem neuen pflanzlichen, antimikrobisch wirkenden Mittel.
Therapiewoche 5, 128-130 (1954/55).
- 45) derselbe:
Verteilung eines ätherischen Öls aus der Kapuzinerkresse in tierischen Organen.
Ärztl. Forsch. 9, 553-560 (1955).
- 46) derselbe:
Ätherische Öle als Adjuvantien der Antibiotikawirkung.
Klin.Wschr. 33, 1119-1120 (1955).
- 47) Van der Waerden, B.L. und E.Nievergelt:
Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels X-Test und Zeichentest.
Springer-Verlag (1956).
- 48) Wechselberg, K.:
Über die Wirkung ätherischer Öle auf das Wachstum von Tuberkelbakterien in vitro.
Z.Hyg.Infekt.Kr. 145, 166-180 (1958).
- 49) Wechselberg, K.:
In vitro-Studien über den Einfluß öligter Pflanzenextrakte aus Tropaeolum maius, Cochlearia armoracia und Allium sativum auf das Wachstum von Tuberkelbakterien.
Z.Hyg.Infekt.Kr. 145, 380-394 (1958)
- 50) Wicher, W.: Antibiotische Wirkstoffe der Kapuzinerkresse (Tromalyt) als Heilmittel in der Urologie.
Medizinische, 2.Halbjahr 1954, 1215-1216.

- 51) Wilde, W.:
Ist von der percutanen Verabreichung ätherischer Öle eine therapeutische Wirkung zu erwarten?
Hippokrates 30, 179-181 (1959).
- 52) Winter, A.G.:
Die Heilpflanzen des Matthiolus (1611) gegen Infektionen der Harnwege und Verunreinigungen der Wunden bzw. zur Förderung der Wundheilung im Lichte der Antibiotikaforschung.
Madaus Jahresbericht 1952, S. 7-19.
- 53) derselbe:
Madaus Jahresbericht 1953, S. 7-42.
- 54) derselbe:
Untersuchungen über die Natur der flüchtigen antibiotischen Wirkstoffe aus *Tropaeolum maius*. X.Mitt.
Naturwissenschaften 41, 337-338 (1954).
- 55) derselbe:
Die Bedeutung antibiotischer Wirkstoffe aus Blütenpflanzen für Therapie und Diät (unter besonderer Berücksichtigung von Kapuzinerkresse, Gartenkresse und Meerrettich).
Medizinische, Nr.2, 1955, 73-80.
- 56) derselbe:
Neue Möglichkeiten der antibiotischen Therapie mit Wirkstoffen aus Blütenpflanzen.
Therapiewoche 5, 126-128 (1954-55).
- 57) Witzhausen, R. und R.Gust:
Über die Voraussetzungen der Bakterizidie des Präparates Phagogene H.N.C. absolu 304, seinen Gehalt an Phenolen und seine Toxizität.
Arch.Hyg. 137, 174-196 (1953).

Lebenslauf

Am 13.8.1936 wurde ich, Ruth Anna Wilhelmine Helene F r i s c h geb. Hasselbring, als erstes von vier Kindern des Verwaltungsangestellten William Hasselbring und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Korte in Nienburg /Weser geboren.

Vom Herbst 1942 bis April 1945 besuchte ich die dortige Friedrich Ebert-Schule. Bis August 1946 fiel der Unterricht aus, da die Schulen von den Alliierten Streitkräften belegt waren. Ostern 1947 wechselte ich auf die Mittelschule über, und da ich mich besonders für Sprachen interessierte, schickten meine Eltern mich Ostern 1950 auf die Oberschule für Mädchen. 1952 zog unsere Familie nach Verden /Aller, wo ich im März 1956 an der Oberschule für Mädchen die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1956 begann ich an der Universität Hamburg das Studium der Medizin, das ich im Winter 1958/59 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz fortsetzte. Dort bestand ich im Frühjahr 1959 das Physikum. Mit Ausnahme des Sommersemesters 1960, das ich in Göttingen verbrachte, habe ich das klinische Studium in Mainz absolviert. Im Oktober 1962 habe ich das Staatsexamen bestanden.

Im Dezember 1962 begann ich im Städtischen Krankenhaus in Singen /Hohentwiel mit der chirurgischen Ausbildung als Medizinalassistentin. Anschließend ging ich auf die innere Abteilung des St.Josephs-Krankenhauses in Moers. Von Mai bis Oktober 1964 war ich in der Evangelischen Diakonissenanstalt im Bremen tätig, zunächst auf der chirurgischen, später auf der gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung. Im Kinderkrankenhaus Rothenburgsort in Hamburg habe ich die vorgeschriebene Medizinalassistentenzeit beendet.

Im Januar 1965 habe ich in der Kinderklinik Bremen mit der pädiatrischen Fachausbildung begonnen.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H.
K l i e w e , danke ich für die Überlassung des
Themas und sein stetes Interesse am Fortgang der
Arbeit.

Herrn Obermedizinalrat Dr. K.-H. H u s m a n n
habe ich für freundliche Ratschläge, Hinweise und
Unterstützung der Arbeit zu danken.

